Aus dem Institut für Geburtshilfe und der Klinik zur Behandlung von Außenfällen der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Abelein
Unter Unterstützung durch das Tierhygienische Institut
Vorstand: Professor Dr. Ernst

Über die Fähigkeit der Geschlechtstrichomonaden des Rindes, bei ihrer Einwanderung in den Uterus Bakterien zu verschleppen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von **Otto Mann**
appr. Tierarzt aus St. Ingbert

München 1938

Aus dem Institut für Geburtshilfe und der Klinik zur Behandlung von Außenfällen der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Abelein
Unter Unterstützung durch das Tierhygienische Institut
Vorstand: Professor Dr. Ernst

Über die Fähigkeit der Geschlechtstrichomonaden des Rindes, bei ihrer Einwanderung in den Uterus Bakterien zu verschleppen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von **Otto Mann**
appr. Tierarzt aus St. Ingbert

München 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

„Meinen Eltern“

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung und Schrifttum 5

A. Eigene Untersuchungen

1. Arbeitsweise 8

2. Aufwanderungsversuche 16

3. Mikroskopische Untersuchungen 33

B. Zusammenfassung der Ergebnisse 38

C. Schlußfolgerungen 45

Eine Methode zur Reinzüchtung der Geschlechtstrichomonaden des Rindes 48

Literaturangaben 53

Lebenslauf 54

Einleitung und Schrifttum

Die Geschlechtstrichomonade des Rindes [Trichomonas fetus (Ernst - Hopfengärtner, Riedmüller), Trichomonas genitalis (Witte)] ist schon wiederholt von verschiedenen Autoren, so von *Riedmüller* (13), *Abelein* (2), *Drescher* und *Hopfengärtner* (6), *Gehring* und *Murray* (7), *Kohl* (11), *Sziklai* (16), *Witte* (20), *Daust* (5) im Uterus des Rindes oder in Foeten in Reinkultur gefunden worden. In drei Fällen konnte ich sie ebenfalls in Reinkultur nachweisen. Weit häufiger noch werden die Trichomonaden in Verbindung mit Bakterien angetroffen. *Weidenauer* (18) konnte sie bei Pyometren sogar nur zusammen mit Bakterien feststellen. Nimmt man an, daß in jenen seltenen Fällen, in denen Reinkulturen von Trichomonaden beschrieben wurden, diese Reinkulturen vielleicht gar nicht von Anfang an vorhanden waren, sondern so entstanden sind, daß die Trichomonaden anfänglich zusammen mit Bakterien gelebt haben und daß die Bakterien dann allmählich von Leukozyten phagozytiert wurden, so könnte man eine primäre Pathogenität der Trichomonaden ablehnen und ihnen höchstens eine sekundär krankmachende Bedeutung beimessen.

In der Literatur fand ich nun vereinzelt die Vermutung ausgesprochen, daß die Trichomonaden bei ihrer Einwanderung in den Uterus Bakterien zu transportieren imstande sein könnten. So hat zum ersten Mal *Weidenauer* (18) darauf hingewiesen, daß ein Transport von Bakterien durch die Trichomonaden infolge ihrer leichten Beweglichkeit denkbar ist. *Abelein* (2) berichtete, daß er bei Untersuchung von Pyometraeiter bei Anwendung des Dunkelfeldes keine Trichomonaden gesehen habe, die Bakterien in ihrem Innern gehabt hätten. Ein Transport im Trichomonadenleib komme also nicht in Frage. Durch Änderung des osmotischen Drucks bei Zugabe von Wasser schienen aber die Trichomonaden zu quellen und dann Bakterien zu adsorbieren. Ob sie in der Lage wären, diese Keime in den Uterus zu transportieren, schien *Abelein* fraglich. In älteren Kulturen, in denen die Flagellaten zusammen mit Bakterien gleichzeitig gewachsen waren, sah er Bakterienklumpen den Trichomonaden anhängen, besonders an deren Geißeln. Sie vermochten sich dann jedoch nicht mehr vom Platz zu bewegen. Es schien *Abelein* immerhin vorstell-

bar, daß sich die Geißeln der Trichomonaden mit denen von Bakterien in der Natur verflechten könnten, wozu im Präputialsekret des Bullen Gelegenheit wäre, und daß so die Trichomonaden zu Bakterientransporteuren würden. In frischen Präparaten aus Vorhautsekret konnte er dies aber nie beobachten.

Inzwischen hat *Abelein* — nach einer persönlichen Mitteilung — Gelegenheit gehabt, seine Beobachtungen an einer großen Zahl von Vorhautsekretproben fortzusetzen und fand in der Mehrzahl der Fälle Trichomonaden mit Bakterien oder Detritus beladen. *Abelein* hält nach diesen Befunden einen Bakterientransport durch die Trichomonaden für sehr wohl möglich.

Von den Humanmedizinern ist es *Hees* (8), (9), der den Trichomonaden des Menschen bakterienbefördernde Funktionen zuschreibt. *Hees* gibt an, daß Trichomonas vaginalis, besonders bei Verschlechterung des Milieus, oft geradezu „Stachelschweinfigur" annehme infolge massenhaften Anhaftens von stäbchenförmigen Bakterien und hat auch beobachten können, wie die Flagellaten ganze Schleier von Kokken hinter sich herzogen. Desgleichen erwähnt er ein Attachement zwischen Trichomonaden und Leukozyten und kommt zu der Annahme, daß bei den bekannten Adsorptionserscheinungen und bei der Neigung der Trichomonaden zu Ortsveränderungen diese geradezu auf eine Strecke Wegs das Vehikel für den Aufstieg der begleitenden sonstigen Infektion sein könnten. Im Jahre 1936 vertritt *Hees* (10) die Ansicht, daß Trichomonas vaginalis alle möglichen Arten von Mikroorganismen (Streptokokken, Staphylokokken, Kolibazillen, Gonokokken) mitzuschleppen in der Lage sei und vermutet auch, daß Krebsmetastasen durch die Geschlechtstrichomonade im Körper verbreitet werden können. Die Zahl der verschleppten Keime sei aber immer gering.

Die Annahme des Bakterientransportes suchte ich zu bestätigen und gleichzeitig trachtete ich danach, evtl. die Bedingungen zu ermitteln, unter denen vielleicht einmal die Trichomonaden n i c h t als Keimträger fungieren, sondern frei von Keimen in den Uterus einwandern, um somit wenigstens einen Teil der gefundenen Reinkulturen von Trichomonaden erklären zu können. Die restlichen Fälle von Trichomonadenreinkulturen mögen dann infolge Phagozytose der Begleit-

bakterien durch Leukozyten entstanden sein. Dabei setzte ich, unter Beachtung der *Beller*'schen (4) Lehre von der nicht unbedingten Keimfreiheit des normalen Uterus, voraus, daß der gesunde Tragsack des Rindes in vielen Fällen wohl von Bakterien, auch solchen apathogener Art, frei sei.

Es kam mir nicht so sehr darauf an, festzustellen, welches spezifische Bakterium von den Trichomonaden befördert wird, sondern ich habe mich darauf beschränkt, den Bakterientransport an und für sich nachzuweisen. Ich suchte diesen Nachweis nicht in erster Linie durch Mikroskopie zu erbringen, wobei man wohl sehen kann, daß Keime dem Trichomonadenkörper anhaften und transportiert werden, sondern vornehmlich durch Aufwanderungsversuche in vitro, welche im Folgenden beschrieben werden sollen.

A. Eigene Untersuchungen

1. Arbeitsweise

Ich ging von der Annahme aus, daß die Trichomonaden durch den Zervikalschleim in die Gebärmutter einwandern und dabei als Bakterienträger auftreten. Analog füllte ich auf Anregung von *Abelein* (welcher 1932 (*Abelein* (2)) zur Erzielung einer Reinkultur versucht hatte, die Trichomonaden in Kapillaren einzufangen) Vaginal - Zervikalschleim von brünstigen Rindern in Glaskapillaren, ließ die Flagellaten aus bakterienhaltigem Trichomonadenmaterial in die Kapillaren aufwandern und verimpfte deren Inhalt nach durchschnittlich 24 Stunden, in zwei Fällen nach 48 Stunden, auf trichomonadenspezifische Nährböden oder säte ihn auf Agar aus.

In den meisten Fällen wurde von trichomonadenhaltigem Pyometrainhalt oder Zervikalschleim ausgegangen, einige Male diente eine Trichomonaden-Bakterienkultur, einmal Vorhautsekret vom Bullen als Grundlage des Versuches. Pyometraeiter und Zervikalschleim wurden aus der exenterierten Gebärmutter von Schlachttieren oder von Patienten gelegentlich der Ambulatorischen Klinik — soweit es anging steril — entnommen und auf Trichomonaden, Keimgehalt und Beweglichkeit der Keime untersucht. Die Flagellaten wurden im Nativpräparat festgestellt, der Keimgehalt jedesmal durch Anlegen einer Agarplatte bestimmt. Alsdann wurden, je nach Menge des Materials, ein oder mehrere, mit Wattepfropf versehene, sterile Reagenzgläser mit je 1—2 ccm des Ausgangsmaterials unter Verwendung einer sterilen Pipette beschickt und in diesen Bodensatz je eine mit Vaginalschleim von brünstigen Rindern gefüllte Kapillare gestellt, welche über der Flamme entweder frisch ausgezogen und damit steril oder im Trockensterilisator keimfrei gemacht worden war. Die Kapillaren wurden kurz vor der Füllung mit Schleim etwa 2 cm vom oberen Ende entfernt mit einem Siegellackring versehen (s. Abb. 1), so daß sie sich nicht an die Innenwand der Reagenzgläser anlegen konnten; damit war verhindert, daß das mehr oder minder flüssige Ausgangsmaterial zwischen Kapillare und Reagenzglaswand aufstieg. Der Brunstschleim wurde durch Saugen am oberen, weiteren Ende in die Kapillare gefüllt und dieses durch den

Mund verunreinigte Ende dann mit der abgeflammten Schere abgeschnitten, wobei die Kapillare über das zu beschickende

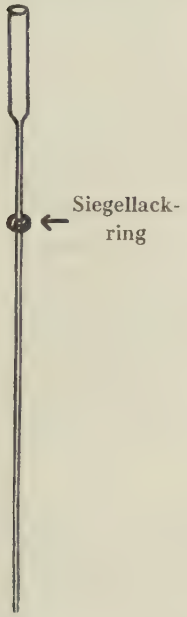

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

Reagenzglas gehalten wurde, so daß das untere, sterile Stück in dieses hineinfallen konnte (s. Abb. 2 und 3).

Es wurde beim Ausziehen der Kapillaren über dem Bunsenbrenner Wert darauf gelegt, daß ihr oberes Ende auch nach dem Abschneiden mit der Schere noch so dick war (etwa $^1/_2$—1 mm), daß das Ausblasen des Inhaltes später keine Schwierigkeiten bereitete. Außerdem war bei der Herstellung der Haarröhrchen darauf geachtet worden, daß Viskosität des Schleimes und Kapillardicke im richtigen Verhältnis zueinander standen, andernfalls sackte der Schleim sofort wieder ab oder ließ sich gar nicht erst aufziehen. Diesbezügliche genaue Daten lassen sich nicht angeben. Man ist da mehr oder weniger auf die eigene Erfahrung angewiesen. Im übrigen war es notwendig, die Kapillaren bis an das obere Ende, das gewöhnlich doppelt bis viermal so dick war wie das untere, aufzufüllen, sonst füllten sie sich von selbst durch Kapillarwirkung mit dem Material, in das sie zu stehen kamen, während ihres Aufenthaltes im Brutschrank nach.

Die Kapillaren mitsamt dem „Mundstück“ in die Reagenzgläser zu stellen, wurde wegen der Gefahr der Infektion vermieden. Auch erwies sich das Aufsetzen eines kleinen Gummiballons auf die Kapillaren als nicht zweckmäßig. Der Gummi litt sehr beim Sterilisieren, wurde brüchig und klebrig und der schwache Unterdruck, der durch die Ballons erzielt werden konnte, genügte oft nicht, um den Schleim in die Kapillaren zu saugen. Außerdem wurde ein Teil des Schleimes beim Verbringen in den Brutschrank wegen der Ausdehnung der im Gummiballon sich befindenden Luft nach unten herausgepreßt und umgekehrt füllten sich die Kapillaren bei der Entnahme aus dem Brutschrank regelmäßig wegen des bei Zimmertemperatur plötzlich auftretenden Unterdrucks mit dem Ausgangsmaterial nach. Ich suchte dem dadurch abzuhelfen, daß ich nach der Füllung der Kapillaren ein kleines Loch in den Ballon brannte. Ich kam aber von dieser Methode wieder ab, da später nicht der gesamte Inhalt der Kapillaren wegen der evtl. durch das Loch in dieselbe gelangten Luftkeime ausgedrückt werden konnte, was ja eigentlich erstrebenswert gewesen wäre und zu welchem Zweck ich die Brauchbarkeit der Ballonkapillaren geprüft hatte. Es kamen also bei allen weiter unten beschriebenen Versuchen die einfachen, etwa 12—15 cm langen Kapillaren mit Siegellackring zur Anwendung.

Nachdem nun die Reagenzgläser mit Ausgangsmaterial und Kapillaren beschickt worden waren, stellte ich das ganze System für durchschnittlich 24 Stunden in den Brutschrank bei 36 ° Celsius. Durch den Aufenthalt im Brutschrank stand, ähnlich dem natürlichen Vorgang, wo die Trichomonaden durch den Zervikalschleim in den Uterus einwandern, zu erwarten, daß die Flagellaten sich in den Kapillaren ansammeln würden. Diese Erwartung ging so gut wie immer in Erfüllung, konnten doch in den meisten Fällen nach 24 Stunden die Trichomonaden in den Kapillaren — bis zu einer Höhe von 12 cm — ermittelt werden und zwar meist in zahlreichen Exemplaren. Stammte der Schleim von einer nicht brünstigen Kuh oder war der Brunstschleim durch Hitzeanwendung flüssig geworden, so konnte, wie eigens zur Klärung dieser Frage angestellte Aufwanderungsversuche ergaben, eine nur unbefriedigende oder gar keine Besiedelung des Schleimes erzielt werden. Auch bei Anwendung von zähem Schleim trächtiger Tiere kam keine Aufwanderung zustande. Es scheint also im Brunstschleim eine durch Hitze (über 75 ° Celsius etwa) zerstörbare Komponente vorhanden zu sein, die auf die Trichomonaden anlockend wirkt. Sie ist im Vaginalschleim nicht brünstiger Tiere und im Schleimpfropf des trächtigen Rindes wohl nur in Spuren anwesend. Das Ausbleiben der Aufwande-

rung bei Verwendung des Schleimes trächtiger Kühe kann auch allein auf die zähe Konsistenz desselben zurückzuführen sein, wodurch die Flagellaten in ihrer Beweglichkeit gehemmt werden und ein Fortkommen unmöglich gemacht wird. Es ist dies um so wahrscheinlicher, als nach *Abelein* (2), *Riedmüller* (15), *Daust* (5) und *Küst* (12) Trichomonaden nach bakterieller Verflüssigung des Schleimpfropfes infolge eines bestehenden, starken Scheidenkatarrhs durch den Zervikalschleim in den trächtigen Uterus einwandern und einen Spätabort verursachen können. Die Ergebnisse der Aufwanderungsversuche bekräftigen die Angaben *Abeleins* (1), (1a), (2), der beobachtet hat, daß die Trichomonaden im zähen Zervikalschleim nicht vom Platz kommen, während sie sich im dünnflüssigen Brunstschleim fortbewegen können. Er konnte seine Vermutung, daß eine Infektion mit Trichomonaden vor allem zur Zeit der Empfängnis möglich ist und daß die Flagellaten in der Lage sind, während der Brunst durch den Zervikalschleim in den Uterus einzudringen, durch Ansteckungsversuche an Rindern bestätigen.

Ein gewisser Keimgehalt der verwendeten Schleimproben schien die Trichomonaden in ihrer Aufwanderung nicht merklich zu stören.

Nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurden die Kapillaren mit steriler Zange aus den Reagenzgläsern herausgeholt und jeweils ihr unteres Ende, das 1—1½ cm tief im Ausgangsmaterial gestanden und somit äußerlich beschmutzt war, in einer Höhe von — in den einzelnen Versuchen wechselnd — etwa 3—6 cm mit abgeflammter Schere schnell (damit an der Schnittstelle keine übermäßige Erwärmung und Gasbildung entstehen konnte, wodurch der Schleiminhalt nach oben und unten aus den Haarröhrchen herausgepreßt worden wäre) abgeschnitten. Der Inhalt der so verkürzten und reinen Kapillare wurde nun auf eine ausgeglühte Öse ausgeblasen. Es wurde jedoch dabei sehr darauf geachtet, daß jedesmal noch ein kleiner Rest (ca. 1—2 cm) in der Kapillare verblieb, so daß man sicher annehmen konnte, daß der auf die Öse ausgeblasene mittlere Abschnitt der Schleimsäule nicht infiziert war (s. Abb. 4). Nun wurde das an der Öse haftende Schleimtröpfchen auf eine Agarplatte ausgesät oder in gewöhnliche Bouillon verimpft. In einigen Fällen wurde

Serum- bzw. Bluttraubenzuckerbouillon (Serum bzw. Blut : Traubenzuckerbouillon = 1:10) oder Serum bzw. Bluttraubenzuckeragar verwendet. Zu Beginn der Arbeit wurde auch unter Umgehung des Ausblasens auf eine Öse versucht, das mittlere Stück der Kapillare einfach in Bouillonflüssigkeit zu werfen. Dieses Verfahren erwies sich aber als nicht besonders zweckmäßig. Die beimpften Platten und Bouillon- bzw. Agarröhrchen kamen nun in den Brutschrank. Um aber Gewißheit zu erhalten, ob und wieviel und bis zu welcher Höhe Trichomonaden aufgestiegen waren, wurde das abgeschnittene untere Stück der Kapillaren sowie der beim Ausblasen in den Haarröhrchen verbliebene Rest auf Trichomonaden untersucht. Untersucht wurde vorteilhafterweise bei 100 facher Vergrösserung, wobei zur Verbesserung des Bildes und bequemeren Durchmusterung die Kapillarstückchen auf einen angefeuchteten Objektträger gelegt wurden. Fand ich Trichomonaden auch in dem beim Ausblasen in den Haarröhrchen verbliebenen Restschleim, so war ich sicher, daß bei der Verimpfung des mittleren Abschnittes der Schleimsäule Trichomonaden erfaßt worden waren. Stellte ich die Protozoen jedoch nur in dem abgeschnittenen Teil fest, dann war ich zu der Annahme berechtigt, wahrscheinlich die am weitesten nach oben gelangten Trichomonaden mitsamt den ihnen etwa anhaftenden Keimen auf Agar ausgesät bzw. in die anderen schon erwähnten Nährböden verbracht zu haben.

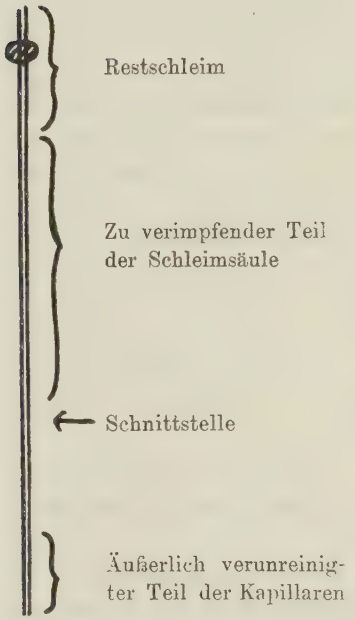

Abb. 4

Nach zweitägigem Aufenthalt im Brutschrank fertigte ich, sofern Kolonien auf den Platten aufgetreten waren, Präparate davon an und färbte sie meist nach Gram. Mit evtl. verwendeten

Bouillon- oder Agarröhrchen verfuhr ich genau so, unterließ es jedoch nicht, im Nativpräparat nach vielleicht gewachsenen Trichomonaden zu suchen, sofern ich spezifische Nährböden beimpft hatte. Konnten in der Bouillon oder im Agarröhrchen Bakterien ohne weiteres nicht festgestellt werden, so säte ich wiederum eine Öse davon auf einer Aagarplatte aus, um auf diese Weise evtl. doch vorhandene Keime sicher zu ermitteln.

Bei der Auswertung der Versuche verglich ich nun die Keime des Ausgangsmaterials mit denjenigen des Kapillarinhaltes und berücksichtigte dabei in den Fällen, in denen der Schleim trotz Vorbehandlung nicht steril geworden war, die im Schleim schon vorher enthaltenen Keime.

Zur Feststellung der Identität der Keime bediente ich mich ihres morphologischen, färberischen und kulturellen Verhaltens. Um mir die Identifizierung zu erleichtern, habe ich in einigen Fällen zu einer Trichomonadenkultur oder zu Pyometraeiter Bakterien gegeben, die, falls sie in den Kapillaren auftraten, durch ihr auffallendes kulturelles Verhalten leicht und sicher wiedererkannt werden konnten. Es handelt sich um das schwach bewegliche Bakterium prodigiosum, das bei Zimmertemperatur auf Kartoffelnährböden und wohl auch auf Agar und in Bouillon einen intensiv roten Farbstoff bildet. Dieses Stäbchen war auch deswegen geeignet, weil es nur schwach beweglich ist und die Kapillaren nicht von selbst in kurzer Zeit besiedeln kann. In den Versuchen, in denen das B. prodigiosum Verwendung fand, brauchte ich auf Keimfreiheit des Schleimes keinen Wert zu legen. Das war insofern von Vorteil, als es dann nicht nötig war, den Brunstschleim vorzubehandeln und er dann auf die Flagellaten seine volle, anziehende Wirkung ausüben konnte. In allen übrigen Versuchen habe ich eine Sterilisierung des Schleimes angestrebt, weil im Schleim und im Ausgangsmaterial oft die gleichen Keime enthalten waren. Da die Entkeimung des Schleimes aus weiter unten angeführten Gründen nicht immer völlig durchführbar war und die Bakterien des Ausgangsmaterials und des Schleimes leider zufällig übereinstimmten, mußte ich etwa 20 solche Versuche von der Notierung ausschließen.

Die Entnahme und Vorbehandlung des Schleimes sowie die Prüfung seiner Konsistenz und Keimfreiheit geschah auf folgende Weise:

Nachdem die Vulva gründlich mit reinem Wasser abgewaschen war, wurde mit der gut gereinigten Hand der Schleim abgenommen. Von der Verwendung von Desinfizientien wurde abgesehen, weil der Schleim den Trichomonaden in möglichst natürlichem Zustand angeboten werden sollte. Für die Entnahme standen brünstige Kühe im Münchener Schlacht- und Viehhof zur Verfügung.

Die Vorbehandlung geschah durch mehrmaliges Erhitzen auf 60 — 70 ° Celsius während 15 — 30 Minuten in Abstand von ca. 24 Stunden. Als diese Methode nicht immer restlos befriedigte (wurde der Schleim bei der Entnahme nur im geringsten durch feinste, im Vestibulum haftende Kotpartikelchen verunreinigt, so konnten die im Kot regelmäßig enthaltenen Sporen niemals abgetötet werden), wurden die Schleimproben zunächst 15—30 Minuten lang auf ca. 65 ° Celsius im Wasserbad erhitzt, hierauf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt und dann wiederum wie vorher mit Hitze behandelt. Dieser Vorgang wurde, wenn es die Konsistenz des Schleimes noch erlaubte, wiederholt. Durch diese Methode sollten zunächst die vegetativen Keime zerstört werden, die übriggebliebenen Sporen sollten sich während des Aufenthaltes im Brutschrank in die vegetative Form umwandeln und diese dann durch die zweite Erhitzung erfaßt werden. Auch hiermit gelang eine Sterilisierung des Schleimes nicht immer mit Sicherheit und es blieben viele Fälle, wo man sich mit den im Schleim verbliebenen Sporenbildnern abfinden mußte. Es wäre natürlich leicht gewesen, durch eine Erhitzung auf höhere Grade eine völlige Keimfreiheit zu erreichen. Es mußte jedoch darauf verzichtet werden, weil der Brunstschleim bei Überschreitung einer Temperatur von etwa 75 ° Celsius leicht seine Konsistenz verliert und flüssig wird und zudem dann von den Trichomonaden nicht mehr gern angenommen wird (s. o.). Umgekehrt wird der Schleim, falls das Tier, von dem er stammt, sich im Stadium der Trächtigkeit befindet, bei starker Erhitzung zähflüssiger und läßt sich auch in verhältnismäßig weite Kapillaren nur schwer aufziehen. Es wurde also die unveränderte Konsistenz als Voraussetzung für eine befriedigende Besiedelung durch Trichomonaden angesehen und um eine solche zu garantieren, die Konsistenz während der Erhitzung von Zeit zu Zeit geprüft. War eine Verflüssigung zu befürchten, so wurde

lieber auf die völlige Keimfreiheit verzichtet und die Erhitzung abgebrochen. Die Konsistenz des Schleimes war auch deshalb so bedeutungsvoll, weil zu erwarten war, daß im flüssigeren Medium die Trichomonaden leichter Keime transportieren würden, als im zähen, wo die Keime evtl. bei der Fortbewegung wieder von den Trichomonaden abgestreift werden. Der Schleim wurde in kleinsten Erlmeyerkölbchen mit weitem Hals erhitzt, aufbewahrt und verwendet.

Die Konsistenzprüfung nahm ich mit der vertikal gehaltenen, gestreckten Platinnadel vor. Es wurde auf die Länge des an der Nadel haftenden Schleimfadens geachtet bis zum Moment des Abreißens. Eine exaktere Messung der Viskosität war nicht möglich, da alle bekannten Viskosimeter für Flüssigkeiten berechnet sind, deren Zähflüssigkeit unter der des Vaginal-Zervikalschleims von brünstigen Rindern liegt. Außerdem wäre jede andere Methode zu umständlich und mit der Gefahr der Infektion des sterilisierten Schleimes verbunden.

Vor der Verarbeitung wurde der Schleim zur Kontrolle durch Anlegen einer Agarplatte auf Keimgehalt untersucht. In manchen Fällen stellte ich eine mit dem vorbehandelten Schleim gefüllte Kapillare in ein leeres und steriles Reagenzglas und säte dann den Kapillarinhalt nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank auf eine Platte aus. Dieses Verfahren diente mir als Kontrolle für keimfreies Arbeiten und ich konnte die evtl. im Schleim enthaltenen Keime mit größerer Sicherheit erfassen, da ihnen im Brutschrank noch einmal Gelegenheit gegeben war, sich zu vermehren.

Nun könnte noch der berechtigte Einwand erhoben werden, daß die Mikroorganismen, die in den Kapillaren nachgewiesen wurden und die auch schon im Ausgangsmaterial gewesen sind, unabhängig von den Trichomonaden in die Kapillaren gelangt sein können, also bei gegebener Beweglichkeit selbständig aufwanderten. Diese Möglichkeit habe ich durch Anstellung von Kontrollversuchen geprüft und zwar mit Bouillonkulturen von Bakterien, die ich jeweils aus dem verwendeten trichomonadenhaltigen Ausgangsmaterial herausgezüchtet hatte oder mit Prodigiosuskulturen. Die Arbeitsweise bei den Kontrollversuchen war die gleiche wie bei den Hauptversuchen.

Soweit die angewandte Methodik. Bevor ich die einzelnen Versuche näher beschreibe, ist es vielleicht praktisch, die Art

der Notierung anzugeben. Zunächst gebe ich eine knappe Beschreibung des Ausgangsmaterials sowie Herkunft und evtl. Art der Entnahme. Dann folgt unter Material Angabe des Trichomonaden- und Keimgehaltes und der Bewegungsfähigkeit der Keime, unter Schleim Keimgehalt und gegebenenfalls abweichende Konsistenz desselben, unter Kapillaren Nennung der Zahl der benutzten Kapillaren, Angabe über Menge der aufgewanderten Trichomonaden, Aufwanderungshöhe und -zeit sowie über die Länge der von den Kapillaren abgeschnittenen unteren Stücke (soweit sie bedeutend länger oder kürzer als ca. 4 cm waren) und Keimgehalt des Inhaltes. Sodann beschreibe ich den Kontrollversuch, wenn ein solcher sich als notwendig erwies, stelle das Ergebnis des Gesamtversuches fest und lasse gegebenenfalls zum besseren Verständnis Bemerkungen folgen.

2. Aufwanderungsversuche

VERSUCH 1:

Trichomonadenkultur verunreinigt mit Staphylokokken, Stamm 7, Passage 28 vom Tierhygienischen Institut.

Material: Viele, lebhaft bewegliche Trichomonaden und grampositive Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Aufwanderung von Trichomonaden in großen Mengen innerhalb von 24 Stunden. In den 5 zur Verwendung gekommenen Kapillaren, deren Inhalt in Bouillon gebracht bzw. in einem Fall auf Agar ausgesät wurde, konnten gram-pos. Staphylokokken ermittelt werden.

Kontrolle: Um sicher zu gehen, daß die Staphylokokken tatsächlich von den Trichomonaden mitgenommen wurden und nicht von selbst innerhalb der 24 Stunden die Kapillaren besiedelt haben, wurden Staphylo- und Diplokokken aus Pyometrainhalt herausgezüchtet und damit ein Kontrollversuch angestellt. Der benutzte Schleim war steril. Der Inhalt der 3 verwendeten Kapillaren wurde auf Agar ausgesät und zwar nachdem die Kapillaren sich 24 Stunden im Brutschrank befunden hatten. Auf den 3 Agarplatten erfolgte kein Wachstum.

Ergebnis: Transport von Staphylokokken durch Trichomonaden in 5 Fällen.

VERSUCH 2:

Material A, steril entnommener Pyometraeiter vom Schlachthof.

Material: Viele, gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Grampos. Staphylo- und Diplokokken.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Nach einem Tag sind sehr viele, lebhaft bewegliche Trichomonaden in den 2 Kapillaren feststellbar. Die Kapillaren-Inhalte wurden in Serumagar verbracht. Nach 4 Tagen waren viele, gut bewegliche Trichomonaden neben grampos. Staphylo- und Diplokokken gewachsen.

Kontrolle: Kein selbständiges Aufwandern von Staphylo- und Diplokokken.

Ergebnis: Transport von Staphylo- und Diplokokken durch Trichomonaden in 2 Fällen.

VERSUCH 3:

Material B, nicht steril entnommener, Eiterflocken enthaltender Zervikalschleim (Amb. Kl.).

Material: Viele, schwach bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Grampos. Staphylo- und Diplokokken, Streptokokken und vereinzelte, bewegliche, plumpe Stäbchen.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Die Trichomonaden waren innerhalb von 24 Stunden bis zu einer Höhe von 12 cm aufgewandert. Beimpfung eines Serumagarröhrchens: Nach 4 Tagen wenige, aber gut bewegliche Trichomonaden, plumpe grampos. Stäbchen sowie Staphylo- und Diplokokken.

Kontrolle: Kein selbständiges Aufwandern von Staphylo- und Diplokokken.

Ergebnis: Transport von Staphylo- und Diplokokken durch Trichomonaden in 1 Fall. Die gleichfalls im Serumagar aufgetretenen plumpen Stäbchen, die auch im Ausgangsmaterial schon vorhanden waren, dürften infolge ihrer Eigenbeweglichkeit in die Kapillaren gelangt, dabei aber von den Trichomonaden bis zu einem gewissen Grad unterstützt worden sein (s. u.). Es handelt sich wohl um Keime, die bei der Entnahme des Zervikalschleimes mit

der bloßen Hand hinzugekommen sind (feinste Kotpartikelchen im Vestibulum).

VERSUCH 4:

Material C, nicht steril entnommener, tiefgelber, etwas zähflüssiger Pyometraeiter vom Schlachthof.

Material: Trichomonaden in geringer Anzahl, jedoch gut beweglich. Agarplatte: Nach 2 Tagen eine einzige, kleine Kolonie von grampos. Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Grampos., plumpe, lange, sporentragende, bewegliche Stäbchen.

Kapillaren: Aufwanderung der Trichomonaden in die 4 Kapillaren, in mäßiger Anzahl.

Kap. 1 und 2: Serumagar: Nach 3 Tagen wenige, aber gut bewegliche Trichomonaden neben lebhaft sich bewegenden Stäbchen. Grampräparat: Grampos., lange, plumpe Stäbchen mit Sporen.

Kap. 3 und 4: Serumagar: Keine Trichomonaden, dagegen Bakterien wie in Kap. 1 und 2.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylokokken in 4 Fällen.

Bemerkungen: Im Material C waren verhältnismäßig wenig Staphylokokken und zum Transport dieser wenigen Keime nur wenige Trichomonaden anwesend.

VERSUCH 5:

Material D, mit sterilem Pinsel entnommener Vaginalschleim (Amb. Kl.). Anwendung von 2 Kapillaren. Die eine kam direkt auf den Pinsel zu stehen, die andere wurde in das aus dem Pinsel ausgedrückte Sekret gestellt.

Material: Viele, sehr gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Grampos. Staphylo- und Diplokokken.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Aufwanderung von Trichomonaden in großer Zahl. Die Kapillarinhalte wurden in Serumagar verbracht:

Röhrchen 1: Nach 2 Tagen, wenige, schwach bewegliche Trichomonaden, außerdem grampos. Staphylo- und Diplokokken.

Röhrchen 2: Nach 2 Tagen mikroskopisch weder Trichomonaden noch sonstige Mikroorganismen. Zur Nachprüfung dieses Befundes wurde eine Agarplatte angelegt: Auf dieser erfolgte kein Wachstum. Dagegen fanden sich bei

einer abermaligen Untersuchung des Röhrchens, nach insgesamt 4 Tagen, Trichomonaden, wenn auch in geringer Zahl. Sie waren gut beweglich.

Kontrolle: Kein selbständiges Aufwandern von Staphylo- und Diplokokken.

Ergebnis: Transport von Staphylo- und Diplokokken durch Trichomonaden in 1 Fall. In einem weiteren Fall Auftreten einer Trichomonadenreinkultur.

Bemerkungen: Die Entstehung der Reinkultur ist wohl so zu erklären, daß das untere, abgeschnittene Stück der Kapillare außergewöhnlich lang war und also ein verhältnismäßig hoch oben gelegener Teil des Kapillarinhaltes (zwischen 5 und 10 cm etwa), in welchem nur einige und nicht mit Kokken infizierte Trichomonaden gelangt waren, verimpft wurde.

VERSUCH 6:

Material E, nicht steril entnommener Pyometraeiter (Amb. Kl.), der über Nacht im Eisschrank aufbewahrt worden war.

Material: Sehr viele, gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Dicht, treppenartig nebeneinanderliegende, zarte, bewegliche Stäbchen sowie eine kleine, punktförmige Kolonie von Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Aufwanderung in großer Menge.

Kap. 1: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kap. 2 und 3: Serumagar: Nach 2 und 5 Tagen keine Trichomonaden, dagegen zarte Stäbchen in mäßiger Anzahl.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylokokken in 3 Fällen, von Stäbchen in 1 Fall. In 2 Fällen anscheinend Transport von Stäbchen.

Bemerkungen: Wie in Versuch 4 waren im Ausgangsmaterial nur wenige Staphylokokken vorhanden. Um von den Trichomonaden mitgenommen zu werden, ist allem Anschein nach eine gewisse Anzahl von Bakterien notwendig. Bezüglich der Stäbchen ist zu sagen, daß sie natürlich infolge ihrer Beweglichkeit von selbst aufgestiegen sein könnten. Es ist jedoch denkbar, daß sie bei ihrer Aufwanderung von den Trichomonaden unterstützt wurden (s. u.).

VERSUCH 7:

Material F, mit Eiterflocken durchsetzter Zervikalschleim (Amb. Kl.).

Material: Viele, gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Breit auseinanderfließende, fluoreszierende Kolonien des B. fluorescens.

Schleim: Agarplatte: Grampos., lange, kräftige Stäbchen, z. T. mit Spore in der Mitte des Zelleibes.

Kapillaren: Trichomonaden zahlreich aufgewandert.

Kap. 1: Agarplatte: Dieselben Keime wie bei Schleim.

Kap. 2: Serumagar: Nach 5 Tagen wenige, lebhaft bewegliche Trichomonaden neben vielen, ebenfalls gut beweglichen Stäbchen, die zum Teil eine hellglänzende Spore tragen. Die Färbung ergibt dasselbe Bild. Um Gewißheit zu erhalten, daß in dem Serumagar neben den Bakterien des Schleimes nicht auch das B. fluorescens des Ausgangsmaterials gewachsen war, wurde eine Öse des Serumagars auf eine Platte ausgestrichen: Kein Wachstum des B. fluorescens.

Kontrolle: Ich nahm an, daß das B. fluorescens vermöge seiner ungeheuren Beweglichkeit eigentlich von selbst hätte die Schleimkapillaren besiedeln müssen und nur zu dem Zeitpunkt der Verimpfung in dem Teil der Schleimsäule, den ich verimpft hatte, noch nicht angekommen war. Ich setzte daher einen Kontrollversuch an mit Bouillonkultur des B. fluorescens unter Verwendung von sterilem Schleim, verimpfte aber nicht den Teil zwischen 4 und 8, sondern den zwischen 3 und 8 cm. Auf den mit den 2 Kapillarinhalten besäten Platten wuchsen breit auseinanderfliessende, fluoreszierende Kolonien.

Ergebnis: Es sind also die Bakterien vermöge ihrer eminenten Eigenbeweglichkeit in 2 Fällen selbständig aufgewandert, obwohl der Schleim, wie nachträglich erwähnt werden soll, eine Konsistenz besaß, die beträchtlich über der des normalen Brunstschleims lag.

Ein Transport dieser Stäbchen erfolgte in 2 Fällen nicht.

VERSUCH 8:

Präputialsekretprobe eines Bullen, mit Pinselkatheter entnommen. Der Pinsel wurde zusammen mit 1 ccm steriler,

physiologischer Kochsalzlösung in ein Reagenzglas gebracht.

Material: Nach 5 Minuten langer Untersuchung wurde eine einzige, gut bewegliche Trichomonade gefunden. Agarplatte: Einige bewegliche, schlanke, grampos. Stäbchen und viele grampos. Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Trichomonaden nicht aufgewandert, waren auch im untersten, abgeschnittenen Teil der Kapillare nicht nachweisbar. Serumbouillon wurde mit dem Inhalt der Kapillare beimpft. Die Bouillon blieb klar. Nach 4 Tagen keine Trichomonaden in der Bouillon. Aussaat einer Öse Bouillonflüssigkeit auf Agarplatte: Kein Wachstum.

Ergebnis: Die im Ausgangsmaterial enthaltenen Staphylokokken und beweglichen Stäbchen sind nicht von selbst aufgestiegen. Ein Transport war nicht möglich, weil ja die Trichomonaden, wohl infolge ihrer geringen Zahl, selbst nicht in den Schleim eingewandert sind. Bei all diesen Versuchen ist also eine gewisse Zahl von Trichomonaden nötig.

Bemerkungen: Dieser Versuch kann als Kontrollversuch für das nicht selbständige Aufwandern von Staphylokokken gelten. Das Gleiche auch bezüglich der beweglichen Stäbchen zu behaupten, wäre unangebracht, da diese mengenmäßig im Ausgangsmaterial zu wenig hervortraten.

VERSUCH 9:

Material G, schleimhaltiger Pyometraeiter, der mittels Spritze aus dem Uterus entnommen worden war (Amb.Kl.).

Material: Wenige, schwach bewegliche Trichomonaden, viele, lebhaft bewegliche Stäbchen. Agarplatte: Sehr plumpe, grampos. Stäbchen mit abgerundeten Ecken, die sich zum Teil körnelig färbten. Außerdem gramnegative, teilweise gebogene, feinere Stäbchen. Bei einigen dieser Keime wurde Sporenbildung beobachtet.

Schleim: Zähflüssiger als Brunstschleim. Agarplatte: Eine punktförmige Kolonie von grampos. Staphylokokken.

Kapillaren: Keine Aufwanderung in die 6 verwendeten Kapillaren. Gramfärbung des Inhaltes einer Kapillare: Einige grampositive Staphylokokken und zwei gramnegative, fei-

nere Stäbchen. Beimpfung eines Serumagarnährbodens mit dem Inhalt einer weiteren Kapillare: Plumpe, grampos., körnelig gefärbte Stäbchen mit abgerundeten Ecken.

Ergebnis: In 2 Fällen Auftreten von Keimen in den Kapillaren, die morphologisch und färberisch mit den Bakterien des Ausgangsmaterials übereinstimmten, im verwendeten Schleim vorher aber nicht nachgewiesen werden konnten. Die Keime haben also den Schleim wohl selbständig besiedelt.

Bemerkungen: Für das Nichtaufwandern der Trichomonaden ist neben der geringen Zahl und der schwachen Beweglichkeit der Protozoen wohl in erster Linie die zähe Konsistenz des verwendeten Schleimes verantwortlich zu machen.

VERSUCH 10:

Trichomonaden - Staphylokokkenkultur vom Tierhygienischen Institut diente als Ausgangsmaterial.

Material: Mäßig viele, gut bewegliche Trichomonaden, grampos. Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Grampos., z. T. körnelig gefärbte, plumpe Stäbchen mit und ohne endständige Spore; außerdem schlanke, gramnegative, sporenbildende Stäbchen.

Kapillaren: Aufwanderung von Trichomonaden in reichlichen Mengen.

Kap. 1: Im Grampräparat grampositive, plumpe, körnelig gefärbte, sporenbildende Stäbchen; gramnegative, schlanke Stäbchen ebenfalls mit Sporenbildung sowie grampos. Staphylokokken.

Kap. 2: Anlegen einer Platte und Färbung der aufgetretenen Kolonien. Es wurden dieselben Keime nachgewiesen wie bei Kap. 1.

Kap. 3: Beimpfung von Serumtraubenzuckerbouillon mit dem Inhalt dieser Kapillare. Es wuchsen neben vielen, gut beweglichen Trichomonaden dieselben Keime wie bei Kap. 1.

Kap. 4: Serumagar: Nach 4 Tagen viele Trichomonaden und Keime wie bei Kap. 1.

Kontrolle: Kein selbständiges Aufwandern von Staphylokokken.

Ergebnis: Transport von Staphylokokken durch Trichomonaden in 4 Fällen.

VERSUCH 11:

Reinkultur von Trichomonaden, Stamm R_1, Pass. 34 vom Tierhygienischen Institut. Die Kultur wurde mit dem schwach beweglichen B. prodigiosum infiziert und das Röhrchen dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, damit sich die zugegebenen Bakterien vermehren und mit den Trichomonaden mischen konnten.

Material: Mäßig viele, gute bewegliche Trichomonaden. Außerdem schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Nicht vorbehandelt. Agarplatte: Grampos. Staphylo- und Diplokokken.

Kapillaren: Aufwanderung von Trichomonaden in ungeheuren Mengen. Aussaat des Inhaltes der Kapillare auf die sterile Schnittfläche einer gekochten Kartoffel, die dann bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Nach 3 Tagen Auftreten von intensiv roten Kolonien.

Kontrolle: Herstellung einer Bouillonkultur des B. prodigiosum und Anwendung von 6 Kapillaren. Der Brunstschleim enthielt grampos., sporenbildende Bakterien und wurde einer Vorbehandlung nicht unterworfen. Nach 24 Stunden Verimpfung der Kapillarinhalte auf Kartoffelnährböden. Auf diesen traten rote Kolonien des B. prodigiosum nach 3 und mehr Tagen nicht auf. Also: Kein selbständiges Aufwandern schwach beweglicher Stäbchen in 6 Fällen, dagegen

Ergebnis: Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 1 Fall.

VERSUCH 12:

Trichomonaden-Reinkultur, Stamm R_2, Passage 47 vom Tierhygienischen Institut. Infizierung der Kultur mit dem B. prodigiosum wie bei Versuch 11.

Material: Sehr viele, lebhafte Bewegungen ausführende Trichomonaden und schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Wie in Versuch 11.

Kapillaren: Trichomonaden in den unteren Abschnitten (bis zu einer Höhe von etwa 6 cm) so zahlreich und dicht nebeneinanderliegend, daß zwischen den einzelnen Flagellaten kaum mehr ein Zwischenraum zu sehen war. Aussaat des Inhaltes von 2 Kapillaren auf Kartoffelnährböden: Nach 3 Tagen rote Kolonien des B. prodigiosum. Die hier auch

wie bei Versuch 11 aufgetretenen Kolonien von Staphylokokken, die im Schleim schon vorhanden waren, wurden außer Acht gelassen.

Kontrolle: Kontrollversuch wurde genau so angestellt, wie der zu Versuch 11, allerdings unter Verwendung einer einzigen Kapillare. Der Brunstschleim war staphylokokkenhaltig und wurde nicht vorbehandelt. Auf dem beimpften Kartoffelnährboden bildeten sich keine Kolonien des B. prodigiosum. Also: Kein selbständiges Aufwandern von schwach beweglichen Stäbchen in 1 Fall.

Ergebnis: Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 2 Fällen.

Bemerkungen: Bemerkenswert ist in diesem und im vorhergehenden Versuch, daß die Flagellaten in so ungeheuren Mengen in den Kapillaren angetroffen wurden. Die Aufwanderung in Massen ist wohl darauf zurückzuführen, daß der benutzte Brunstschleim vorher keinerlei Behandlung ausgesetzt war. Für die Sicherheit des Transportes dürfte ein massenhafter Aufstieg der Trichomonaden von Bedeutung sein.

VERSUCH 13:

Material H, Pyometraeiter, 2 Tage im Eisschrank aufbewahrt.

Material: Wenige, schwach bis gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Grampos. Staphylokokken.

Schleim: Agarplatte: Grampos., sporenbildende Stäbchen.

Kapillaren: Es waren nur einige Exemplare von Trichomonaden eingewandert. Die Kapillare wurde weiter oben, als gewöhnlich, abgeschnitten. Aussaat auf Agarplatte: Außer den schon im Schleim enthaltenen Sporenbildnern wuchsen keine anderen Keime.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylokokken durch Trichomonaden in 1 Fall.

Bemerkungen: Durch den langen Aufenthalt im Eisschrank waren die Trichomonaden geschwächt und sind nur sehr träge und in geringer Zahl aufgestiegen. Zudem wurde die Kapillare absichtlich weit oben, etwa 6 cm vom unteren Ende entfernt, abgeschnitten.

VERSUCH 14:

Reinkultur von Trichomonaden, Stamm Beller vom Tierhygienischen Institut wurde mit dem B. prodigiosum infiziert. Nach 24 Stunden Ansetzen des Versuchs mit 3 Kapillaren.

Material: Viele, gut bewegliche Trichomonaden und schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Nicht vorbehandelter, sporenbildende Bakterien enthaltender Brunstschleim.

Kapillaren: Trichomonaden in allen 3 Kapillaren in großer Zahl nachweisbar. Auf 3 Kartoffelnährböden kein Wachstum des B. prodigiosum.

Ergebnis: Anscheinend kein Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 3 Fällen.

Bemerkungen: Es wurde jeweils der Inhalt der Kapillaren zwischen 6 und 10 cm Höhe verimpft. Wären die Kapillaren etwa 1 cm tiefer (wie in Versuch 11 und 12) durchtrennt worden, dann wären sicher auf den Kartoffelnährböden Kolonien des B. prodigiosum entstanden. Denn man muß damit rechnen, daß die Stäbchen, die bei Beobachtung im Mikroskop den Trichomonaden immer nur kurze Zeit anhaften, mehr durch Druck- und Schubwirkung seitens der massenhaft in Richtung der Kapillaröffnung orientierten Trichomonaden, als durch Klebenbleiben am Flagellatenkörper in die Kapillaren gelangen und daß dann, wenn die Massenansammlung sich allmählich lockert und einzelne Trichomonaden immer weiter nach oben streben, diese dann die Stäbchen zurücklassen.

VERSUCH 15:

Trichomonaden-Reinkultur, Stamm R_2, Pass. 48. Infizierung der Kultur mit dem B. prodigiosum wie bei Versuch 11, 12, 14.

Material: Sehr viele, lebhaft bewegliche Trichomonaden und schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Wie bei Versuch 14.

Kapillaren: Einwanderung in die 4 Kapillaren nur in wenigen Exemplaren, diese waren nur mehr schwach beweglich. Auf den mit den 4 Kapillarinhalten beimpften Nährböden wuchsen keine Kolonien des B. prodigiosum.

Ergebnis: Kein Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 4 Fällen.

Bemerkungen: Da die Adsorption zwischen Trichomonaden und Stäbchen, wie in Versuch 14 unter Bemerkungen erwähnt, minimal ist, so steht, falls aus irgend einem Grund nur wenige Geißeltierchen aufsteigen und somit die Druck- und Schubwirkung wegfällt, zu erwarten, daß ein Transport von Stäbchen nicht stattfindet. Im vorliegenden Fall wurden die Kapillaren in etwa 4 cm Höhe durchtrennt und es kann dieser Versuch, ebenso wie die Kontrollversuche zu Versuch 11, 12, als Beweis dafür dienen, daß schwach bewegliche Stäbchen innerhalb von 24 Stunden die Kapillaren nicht besiedeln.

VERSUCH 16:

Material I, nicht steril entnommener Pyometraeiter, rötlich, dünnflüssig (Schlachthofmaterial).

Material: Sehr viele und sehr lebhaft bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Starke, grampos. Stäbchen mit mittelständigen Sporen, letztere auch freiliegend. Die Stäbchen zeigen lebhafte Beweglichkeit.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Aufstieg von Trichomonaden in mäßigen Mengen. Agarplatte: Keime, wie unter Material beschrieben.

Kontrolle: Herstellung von Bouillonkulturen der im Material enthaltenen Keime. Verwendung von 5 mit sterilem Schleim gefüllten Kapillaren. Verimpfung der Kap.-Inhalte nach 24 Stunden.

Kap. 1 und 2: Agarplatten: Kein Wachstum.

Kap. 3: Agarplatte: Keime wie bei Material.

Kap. 4: Traubenzuckerbouillon: Diese trübt sich nicht. Aussaat einer Öse der Bouillon auf eine Agarplatte: Kein Wachstum.

Kap. 5: Traubenzuckerbouillon: Leichte Trübung nach 1 Tag. Gramfärbung: Keime wie bei Material.

Ergebnis: Auf Grund des Kontrollversuches mögen die Stäbchen im Hauptversuch selbständig aufgewandert sein. Da dieselben Stäbchen aber im Kontrollversuch in 3 Fällen in den Kapillaren nicht angetroffen wurden, ist wohl die

Schlußfolgerung berechtigt, daß sie durch die Protozoen bei der Aufwanderung Unterstützung erfahren haben. S. auch Versuch 3, 6.

VERSUCH 17:

Material K, nicht steril entnommener, dickflüssiger Pyometraeiter vom Schlachthof.

Material: Viele Epithelien, wenige, jedoch gut bewegliche Trichomonaden. Außerdem morphologisch, färberisch und kulturell mit den Bakterien von Material I übereinstimmende Keime.

Schleim: Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Aufwanderung von nur wenigen Trichomonaden.
Kap. 1: Agarplatte: Keime wie bei Material.
Kap. 2 und 3: Bluttraubenzuckerbouillon: Nach 3 Tagen keine Trichomonaden, jedoch Keime wie bei Material.

Kontrolle: Wurde genau so durchgeführt, wie die zu Versuch 16. Verwendung von 2 Kapillaren. Schleim war steril. Aussaat der 2 Kapillarinhalte auf Agarplatten: Die eine Platte blieb steril, auf der anderen wuchsen bewegliche Keime, wie sie unter Material beschrieben wurden.

Ergebnis: Die beweglichen Keime des Ausgangsmaterials sind wohl, aus den bei Versuch 16 angeführten Gründen, bei ihrer Einwanderung in die Kapillaren von den Flagellaten unterstützt worden (3 Fälle). S. auch Versuch 3, 6, 16.

VERSUCH 18:

Trichomonaden-Reinkultur, Stamm R_2, Pass. 49 wurde mit dem B. prodigiosum infiziert. Nach 24 Stunden Anstellen des Versuchs mit 6 Kapillaren.

Material: Viele, gut bewegliche Trichomonaden und schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Nicht vorbehandelt, staphylokokkenhaltig.

Kapillaren: In den Kap. 1, 2, 3, 4 waren Trichomonaden in großen Mengen nachweisbar, vereinzelte Exemplare auch in ihren obersten Teilen. Es wurden daher die Kapillarinhalte höher als gewöhnlich, etwa zwischen 7 und 11 cm abgeimpft. Auf 4 Kartoffelnährböden gingen Kolonien des B. prodigiosum nicht an.
In den Kap. 5 und 6, die ebenfalls mit frischem Brunstschleim gefüllt waren, der jedoch neben Staphylokokken

noch einige lange, kräftige Stäbchen enthielt, konnten Trichomonaden nur in den unteren Abschnitten beobachtet werden und zwar in Kap. 5 nur einige Exemplare, in Kap. 6 in mäßiger Zahl. Wegen der Anwesenheit der Trichomonaden nur im unteren Abschnitt wurde ein tiefer gelegener Teil der Schleimsäulen (das Stück zwischen etwa 4 und 7 cm) auf Kartoffelnährböden ausgesät. Kolonien des B. prodigiosum traten auf diesen nicht auf.

Ergebnis: Kein Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 6 Fällen.

Bemerkungen: Bezüglich Kap. 1, 2, 3, 4, 6 s. Bemerkungen zu Versuch 14, für die Kap. 5 gelten die Bemerkungen zu Versuch 15.

Versuch kann wie Kontrolle zu Versuch 11, 12 und Versuch 15 als Kontrolle für nicht selbständiges Aufwandern von schwach beweglichen Stäbchen dienen.

VERSUCH 19:

Material I (s. Versuch 16) mit Bouillonkultur des B. prodigiosum vermischt. Nach 24 stündiger Mischung Trichomonaden noch lebhaft beweglich in großer Zahl vorhanden. Verwendung von 4 Kapillaren.

Material: Trichomonaden, sporenbildende Bakterien und das B. prodigiosum als schwach bewegliches Stäbchen.

Schleim: Nicht vorbehandelt, enthielt sporenbildende Bakterien.

Kapillaren: In den 4 Kapillaren nach 24 Stunden nur wenige, jedoch gut bewegliche Flagellaten. Auf den mit den Schleiminhalten beimpften Kartoffelnährböden wuchsen keine Kolonien des B. prodigiosum.

Ergebnis: Kein Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 4 Fällen.

Bemerkungen: S. Bemerkungen zu Versuch 15.

VERSUCH 20:

Material L, Pyometraeiter, 2 Tage im Eisschrank gestanden.

Material: Sehr viele, gut bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Kein Wachstum. Da also keine Bakterien in dem Trichomonadeneiter vorhanden waren, wurden künstlich welche zugesetzt und zwar das B. prodigiosum.

Schleim: Agarplatte: Sporenbildende Bakterien; nicht vorbehandelt.

Kapillaren: Aufwanderung in reichlicher Zahl. Von 2 Kapillarinhalten wurden hoch oben gelegene Teile auf Kartoffelnährböden verimpft. Auf diesen nach 3 und mehr Tagen keine Kolonien des B. prodigiosum.

Ergebnis: Kein Transport von schwach beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 2 Fällen.

Bemerkungen: S. solche zu Versuch 14.

VERSUCH 21:

Material M, Vaginal-Zervikalschleim einer Versuchskuh. Die Probe war vor der Verarbeitung 24 Stunden im Eisschrank gestanden.

Material: Sehr viele, schwach bewegliche Trichomonaden. Agarplatte: Unbewegliche, grampositive, außerordentlich verschlungene Fäden bildende, dicke, körnelig gefärbte Stäbchen; des weiteren grampos., kürzere und weniger starke Stäbchen mit lebhafter Beweglichkeit; außerdem grampos. Staphylokokken.

Schleim: War nach der Vorbehandlung etwas flüssiger als normaler Brunstschleim. Agarplatte: Grampos., körnelig gefärbte, dicke, verschlungene Fäden bildende Stäbchen. Außerdem grampos. kurze und feine Stäbchen mit guter Eigenbewegung.

Kapillaren: Den Trichomonaden wurde in diesem Fall 48 Stunden Zeit zum Aufwandern gelassen und dann erst wurden die Kapillarinhalte auf Platten bzw. in Bouillon verimpft. Kap. 1: Im unteren Teil Trichomonaden nachgewiesen. Agarplatte: Dicke, lange, körnelig gefärbte, grampos., fadenbildende Stäbchen; kurze und feine, grampos., stäbchenförmige Bakterien und grampos. Staphylokokken.

Kap. 2: Wie Kap. 1.

Kap. 3: Wie Kap. 1.

Kap. 4: Trichomonaden auch im oberen Teil in großen Mengen anwesend. In der mit dem Kapillarinhalt beimpften Bouillon wuchsen die gleichen Keime wie bei Kap. 1 beschrieben.

Kontrolle: 1. Kein selbständiges Aufwandern der Staphylokokken.

2. Bezüglich der im Ausgangsmaterial enthaltenen plumpen, langen, körnelig gefärbten Stäbchen lassen sich Aus-

sagen nicht machen, da im benutzten Schleim nach ihrer Morphologie, Färbbarkeit und kulturellem Verhalten dieselben Keime waren. Um mir jedoch darüber Klarheit zu verschaffen, ob die im Ausgangsmaterial gleichfalls vorhandenen kürzeren und weniger starken, beweglichen Stäbchen zum Zeitpunkt der Verimpfung sich noch nicht in der Höhe befunden hatten, wo abgeimpft wurde oder ob eine selbständige Aufwanderung für diese Keime nicht in Frage kommt, setzte ich einen 2. Kontrollversuch an und zwar nahm ich ein etwa 1 cm tiefer gelegenes Stück des Inhaltes der Kapillaren zur Verimpfung. Verwendung fanden 2 mit sterilem Schleim gefüllte Kapillaren. Aussaat ihres Inhaltes in der angegebenen Höhe nach 24 Stunden auf Agarplatten: Kein Wachstum. Die beweglichen Keime des Ausgangsmaterials sind also, in 2 Fällen, nicht von selbst aufgewandert, auch nicht innerhalb von 48 Stunden, wie der Hauptversuch (4 Fälle) beweist.

Ergebnis: Transport von Staphylokokken durch Trichomonaden in 4 Fällen. Kein Transport von beweglichen Stäbchen in 4 Fällen.

VERSUCH 22:

Material N, dickflüsiger Pyometraeiter vom Schlachthof.

Material: Sehr wenige, aber lebhaft bewegliche Trichomonaden (erst nach viertelstündigem Mikroskopieren konnte eine Trichomonade entdeckt werden). Wenige Staphylo- und Diplokokken, gramnegative, kurze, bewegliche Stäbchen.

Schleim: Agarplatte: Grampos., lange, kräftige, sporentragende Stäbchen. Außerdem grampos., kurze, feine Stäbchen.

Kapillaren: Trichomonaden in allen 3 Kapillaren in mäßiger Zahl feststellbar, auch in den obersten Abschnitten. Die Kapillaren wurden daher weit oben abgeimpft.

Kap. 1: Agarplatte: Sporenbildende, kräftige, lange, grampos. Stäbchen sowie grampos. kurze, feine, stäbchenförmige Bakterien.

Kap. 2: Kein Wachstum auf Agarplatte.

Kap. 3: Agarplatte: Grampos., kurze, feine Stäbchen.

Kontrolle: Dieselben Gründe, die mich in Versuch 21 zur Vornahme einer Kontrolle veranlaßten, ließen mich auch hier einen Kontrollversuch ausführen. Dieser wurde genau so

gehandhabt wie der zum vorhergehenden Versuch, also Abimpfung der Schleimsäule an einer tiefer gelegenen Stelle. Schleim war steril. Die zwei Kapillarinhalte wurden auf Agarplatten ausgestrichen: Kein Wachstum.

Die kurzen, gramnegativen, beweglichen Stäbchen des Ausgangsmaterials sind also, in 2 Fällen, nicht von selbst aufgestiegen, auch nicht im Hauptversuch mit 3 Fällen.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylo- und Diplokokken und kurzen, beweglichen Stäbchen durch Trichomonaden in 3 Fällen.

Bemerkungen: Es ist von Wichtigkeit, noch einmal festzustellen, daß den wenigen Trichomonaden nur wenige Staphylo- und Diplokokken zur Verfügung standen, desgl. die Zahl der Trichomonaden viel zu gering war, als daß ein Transport oder Unterstützung der beweglichen Stäbchen durch die Trichomonaden im Versuch hätte zum Ausdruck kommen können. Zudem wurden die Kapillaren weit oben durchtrennt. Vgl. auch Versuch 4, 5, 6, 13.

VERSUCH 23:

Material N wurde mit einer Kultur des B. prodigiosum vermischt. Nach 24 stündiger Mischung Ansetzen des Versuches mit 3 Kapillaren. Zu diesem Zeitpunkt waren die Trichomonaden noch lebhaft beweglich.

Material: Sehr wenige, indessen lebhaft bewegliche Trichomonaden. Wenige Staphylo- und Diplokokken, gramnegative, kurze, bewegliche Stäbchen und schwach bewegliche Stäbchen.

Schleim: Wie in Versuch 21.

Kapillaren: Trichomonaden nach 48 Stunden nur in den untersten Abschnitten der Kapillaren nachweisbar. Bei Kap. 1 und 2 wurde ein weiter unten liegender Teil der Schleimsäule, bei Kap. 3 ein weiter oben befindlicher Teil verimpft. Auf keiner der 3 Platten traten Kolonien des B. prodigiosum auf. Dagegen fanden sich auf einer jeden die schon im Schleim enthaltenen Keime, desgl. gramnegative, kurze, bewegliche stäbchenförmige Bakterien.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylo- und Diplokokken und schwach beweglichen Stäbchen in 3 Fällen.

Bemerkungen: Obwohl die in den Kapillaren aufgetretenen gramnegativen, beweglichen, kurzen Stäbchen im Kontrollversuch zu Versuch 22 unter Verwendung von sterilem Schleim in 2 Fällen nicht von selbst aufgewandert sind, ist anzunehmen, daß sie im vorliegenden Versuch nicht durch die Trichomonaden verschleppt wurden, sondern von selbst den Schleim besiedelt haben, insofern ihnen 2 Tage lang Zeit dazu gegeben war. Man könnte vielleicht daran denken, daß die Protozoen die Bakterien bei ihrer Aufwanderung in geringem Grade unterstützt haben (s. u.). Was die Staphylo- und Diplokokken angeht, die in diesem Versuch nicht mitgenommen wurden, so wird auf die Bemerkungen zu Versuch 22 verwiesen. Bezüglich des B. prodigiosum s. Versuch 14 und 15.

VERSUCH 24:

Trichomonaden-Reinkultur, Stamm R_2, Pass. 52 wurde mit Staphylokokken infiziert.

Material: Zahlreiche, sehr gut bewegliche Trichomonaden und grampos. Staphylokokken.

Schleim: Sehr viel flüssiger als normaler Brunstschleim infolge 10 Minuten langer Erhitzung auf 100 ° Celsius. Agarplatte: Grampos., kurze, feine, bewegliche Stäbchen.

Kapillaren: Trichomonaden in den 3 Kapillaren nur im untersten Abschnitt nachweisbar. Bei Kap. 1 und 2 wurde der Inhalt weiter oben, bei Kap. 3 weiter unten abgenommen und auf Agarplatten ausgestrichen.

Platte 1: Keime wie bei Schleim.

Platte 2: Kein Wachstum.

Platte 3: Wie Platte 1.

Ergebnis: Kein Transport von Staphylokokken durch Trichomonaden in 3 Fällen.

Bemerkungen: Der leichtflüssige Schleim wurde von den Trichomonaden nur träge bevölkert und diese waren entweder in dem verimpften Schleimtröpfchen gar nicht vorhanden oder es waren nur die am weitesten nach oben gelangten Flagellaten, die oft frei sind von Bakterien, erfaßt worden. Dieser Versuch ist, abgesehen von der Tatsache, daß leichtflüssiger Schleim von den Trichomonaden nur ungern angenommen wird, insofern von Bedeutung, als er

zeigt, daß auch leichtflüssiger Schleim innerhalb von 24 Stunden von Kokken nicht besiedelt wird.

VERSUCH 25:

Material O, mit Eiterflocken durchsetzter Zervikalschleim (Amb. Kl.), nicht steril entnommen. Das Material wurde zwei Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann erst verarbeitet.

Material: Schwach bewegliche Trichomonaden in mäßiger Anzahl. Agarplatte: Grampos. Staphylokokken.

Schleim: Wurde eine halbe Stunde gekocht und war nach dieser Behandlung vollkommen flüssig.
Agarplatte: Kein Wachstum.

Kapillaren: Keine Aufwanderung von Trichomonaden innerhalb von 24 Stunden. Die beiden mit den Kapillarinhalten beimpften Platten blieben steril. Auch nach Anreicherung in Bouillon konnten Keime nicht ermittelt werden.

Ergebnis: Keine Einwanderung von Staphylokokken in verflüssigten Schleim, desgl. keine Einwanderung von Trichomonaden in 2 Fällen.

VERSUCH 26:

Mit Material O wurde ein 2. Versuch vorgenommen unter Benutzung von zähem Schleim einer trächtigen Kuh.

Material: Schwach bewegliche Trichomonaden in mäßiger Anzahl; grampos. Staphylokokken.

Schleim: Wurde $^1/_2$ Stunde auf 100 ^{0} Celsius erhitzt. Agarplatte: Kein Wachstum. Konsistenz: Sehr zäh.

Kapillaren: Keine Aufwanderung von Trichomonaden. Die beiden Kapillarinhalte wurden auf Agarplatten ausgesät: Kein Wachstum.

Ergebnis: Keine Einwanderung von Staphylokokken in zähen Schleim, desgl. keine Einwanderung von Trichomonaden in 2 Fällen.

3. Mikroskopische Untersuchungen

Zur Veranschaulichung des Bakterientransportes und Ergänzung der Aufwanderungsversuche mögen nebenstehende Mikroaufnahmen (Abb. 5—10) dienen, die Herr Dr. Krembs

im Tierpathologischen Institut (Vorstand: Prof. Dr. Seifried) liebenswürdigerweise für mich herstellte.

Die Aufnahmen wurden bei Anwendung der Ölimmersion gemacht (Homal 3, Objektiv 90, Balg 16). Die zu den Abbildungen benutzten Präparate sind nach Fixierung des lufttrokkenen Ausstrichs in Methylalkohol mit Azur-Eosinlösung nach Romanowsky-Giemsa gefärbt worden.

Zu den Abbildungen möchte ich allgemein bemerken, daß sie, für sich allein betrachtet, durchaus keine Beweiskraft haben, sondern nur in Verbindung mit den Ergebnissen der Aufwanderungversuche zu beurteilen sind. Zur Ergänzung der Photographien erachte ich es außerdem für notwendig, einige Beobachtungen hinzuzufügen, die nur im Nativpräparat, evtl. unter Öleinschluß oder im hängenden Tropfen oder bei Anwendung des Dunkelfeldes gemacht werden können. Ich habe meist den ersteren Weg gewählt: Deckglaspräparat unter Öleinschluß. Die Beobachtungen beziehen sich sowohl auf infizierte Trichomonadenkulturen, als auch auf natürliches Material (Vaginalschleim, Pyometrainhalt, Präputialsekret).

Was die Kokken angeht, so konnte ich verfolgen, daß sie von den Trichomonaden gern angenommen werden und sie sich nicht leicht wieder von den Flagellaten lösen. Die Kokken sieht man gelegentlich in ganzen Trauben dem Hinterende oder der hinteren Geißel anhängen. An der Membran, an den vorderen Geißeln und am Protozoenkörper haften nur Einzel- und Diplokokken. Die Kokken werden oft über weite Strecken verschleppt. Dies ist besonders dann der Fall, wenn die Beweglichkeit der Trichomonaden geringer wird, wie sich überhaupt ältere Exemplare aus 5 und mehr Tage alten Kulturen gern mit allen möglichen korpuskulären Elementen beladen. Die gleichen Beobachtungen machte *Abelein* (2) in Kulturen von Trichomonas genitalis und *Hees* (9) bezüglich Trichomonas vaginalis des Menschen. Im Präputialsekret des Bullen weisen die Trichomonaden meist eine unreine, vielfach mit Bakterien besetzte Oberfläche auf. In jüngeren infizierten Pyometren erscheinen die Trichomonaden sauberer als in älteren. An jungen Flagellaten haften die Keime nicht so leicht; sie werden, sofern es zum Festhaften gekommen ist, rasch wieder mit einigen energischen Bewegungen abgeschleudert. Eine Verwechslung von Kokken mit den von *Riedmüller* (13) beschriebenen, an den

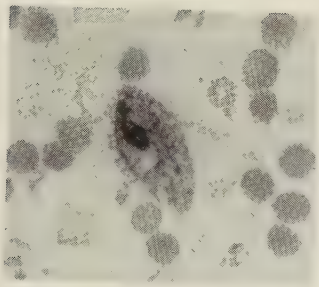

Abb. 5

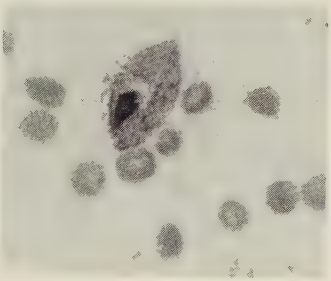

Abb. 6

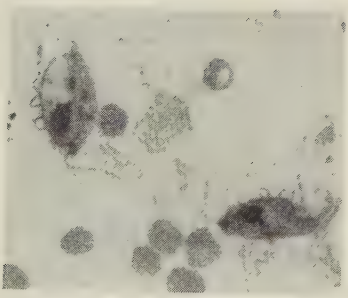

Abb. 7

Abb. 5—7: Trichomonaden mit zum Teil adsorbierten Erythrozyten. Der kleine Zwischenraum, der zwischen Trichomonade und Erythrozyt zu sehen ist, besteht wohl aus einer nicht färbbaren Substanz.

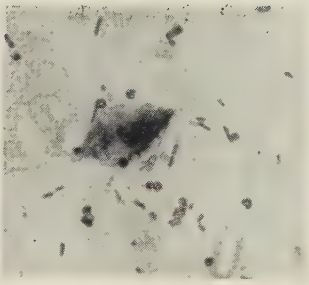

Abb. 8

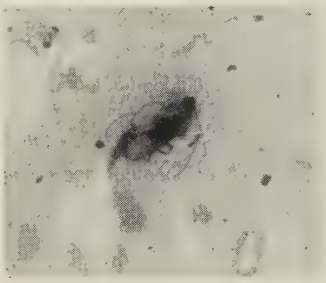

Abb. 9

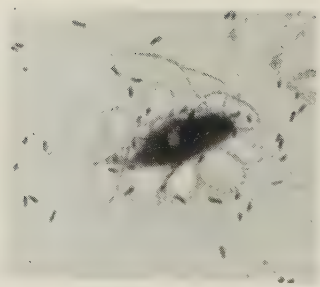

Abb. 10

Abb. 8: Adsorption von Stäbchen und Einzelkokken am Trichomonaden körper sowie an den nach rückwärts geschlagenen Geißeln.
Abb. 9.: Adsorption eines Stäbchens an einer vorderen Geißel.
Abb. 10: Festhaften von Stäbchen auch am Velum.

Trichomonaden lose haftenden oder auch freiliegenden Exkretvakuolen ist auch im Nativpräparat nicht gut möglich.

Bezüglich der Stäbchen liegen die Dinge etwas anders. Das Klebeverhältnis zwischen ihnen und den Trichomonaden scheint nicht sehr groß, wenigstens nicht so groß wie das zwischen Kokken und letzteren, zu sein. Ich habe die verschiedensten mir zur Verfügung stehenden Stäbchenarten, bewegliche und unbewegliche, mit den Trichomonaden zusammengebracht, 24 Stunden in Mischung belassen und dann erst betrachtet und bin immer zu denselben Ergebnissen gekommen. Auch bei einem Angebot von sehr vielen Stäbchen, wie es in der Natur kaum vorkommt, konnte ich immer nur eine sekundenweise Adhäsion konstatieren. Lediglich in älteren Kulturen hafteten die Stäbchen etwas besser und wurden dann durch mehrere Gesichtsfelder hindurch verschleppt. Ich gewann den Eindruck, als ob kürzere und feinere und unbewegliche Stäbchen beim Transport bevorzugt würden; sie wurden hie und da an der Membran hängend gesehen. Bewegliche Stäbchen strebten meist aus eigener Kraft wieder von den Flagellaten fort.

Erythrozyten werden sowohl von jüngeren als auch von älteren Trichomonaden gern adsorbiert. Man kann häufig die Beobachtung machen, wie Agglomerationen von 4 bis 6 und mehr roten Blutkörperchen von einer einzigen Trichomonade minutenlang fortbewegt werden. Die Erythrozyten gleiten und rollen, infolge der Vorwärtsbewegung ihres Transporteurs, oft am ganzen Trichomonadenkörper entlang, ohne indessen davon loszukommen.

Beim Mikroskopieren habe ich auch mein Augenmerk darauf gerichtet, evtl. in den Trichomonaden eingeschlossene Keime zu entdecken. Es wäre in diesem Fall denkbar gewesen, daß ein Teil der Bakterien im Innern der Protozoen passiv den Weg in den Uterus zurücklegt und durch Zerfall der Trichomonaden in der Gebärmutter frei wird. Eine Aufnahme von Bakterien und anderen geformten Elementen wird von vielen Autoren geleugnet, aber auch von manchen befürwortet.

Riedmüller (13), (14) hält eine Bakterienaufnahme für unwahrscheinlich und vermutet, daß die Trichomonaden sich von gelösten Stoffen ernähren.

Abelein (2) konnte an Material aus Pyometren bei Dunkel-

feldbeleuchtung Bakterien im Innern der lebenden Trichomonaden nicht feststellen.

Witte (20) war es gleichfalls nicht möglich, Bakterien und auch Erythrozyten im Innern von lebenden Flagellaten zu konstatieren.

Gehring und *Murray* (7) fanden geformte Teilchen in den lebenden Trichomonaden nicht. Verfasser glauben aber, daß die Möglichkeit der Einverleibung von festen Teilchen besteht, weil die Trichomonaden immer, sowohl im natürlichen wie im Kulturmaterial, im Sediment und in Leukozytenansammlungen angetroffen werden.

Wenrich und *Emmerson* (19) halten eine Aufnahme von Nahrungskörpern durch die Trichomonaden für möglich. Ausserdem komme eine Phagozytose von Trichomonaden durch Leukozyten vor.

Hees (8) war es trotz stundenlanger Beobachtungen im hängenden Tropfen nicht möglich, Bakterienaufnahme auch für Trichomonas vaginalis des Menschen nachzuweisen. Bakterien kommen nach ihm als Nahrung für die Trichomonaden nicht in Betracht, sondern nur gelöste Stoffe.

Nach Andrews, Bland, Goldstein, Wenrich und Weiner, zit. nach *Gehring* und *Murray* (7), ist die Geschlechtstrichomonade des Menschen fähig, Bakterien zu phagozytieren.

Hees (10) vertritt 1936 den Standpunkt, daß Teile von Erythrozyten und sogar von Leukozyten von den Geschlechtstrichomonaden des Menschen dann aufgenommen werden, wenn sie sich in die Amöbenform umgewandelt haben. Umgekehrt könnten Trichomonaden von Riesenzellen verzehrt werden. Trichomonas vaginalis sei in der Lage, nicht nur Mikroorganismen (Staphylokokken, Streptokokken usw.), sondern auch Zellen zu phagozytieren.

Ich selbst habe bei meinen Untersuchungen an lebenden und gefärbten Geschlechtstrichomonaden des Rindes niemals eine Phagozytose von Bakterien oder eine Einverleibung von sonstigen geformten Teilchen konstatieren können. Dafür, daß eine Bakterienaufnahme unwahrscheinlich ist, spricht auch die Tatsache, daß sich die Trichomonaden in Flüssigkeiten, denen keinerlei feste Bestandteile beigemengt sind, vermehren und auch bakterienfrei wachsen können (*Witte* (20)) und daß bei starker Verunreinigung mit Bakterien die Protozoen oft schnell

zugrunde gehen, was auch *Gehring* und *Murray* (7), *Witte* (20) und *Wagner* und *Hees* (17) betont haben

Zusammenfassend sei gesagt, daß eine Bakterienphagozytose sehr unwahrscheinlich ist und Keime also auf diesem Wege kaum in den Uterus transportiert werden. Die Bakterien hängen vielmehr äußerlich an den Trichomonaden an und werden so befördert.

Das Festkleben von Stäbchen ist nur von kurzer Dauer. Dagegen werden Kokken gut adsorbiert.

Ältere Trichomonaden adsorbieren Bakterien und sonstige geformte Teilchen leichter als jüngere.

B. Zusammenfassung der Ergebnisse

Es erübrigt sich wohl, die Versuche im Einzelnen durchzusprechen, da ich die notwendigen Erläuterungen jeweils am Ende der Versuchsbeschreibung unter „Bemerkungen" gegeben habe. Ich kann mich also damit begnügen, eine gedrängte Zusammenfassung der Ergebnisse folgen zu lassen.

Keine Aufwanderung von Trichomonaden in 4 Versuchen mit zusammen 11 Kapillaren. (Vers. 8: Nur einzelne Trichomonaden im Ausgangsmaterial, 1 Kapillare. Vers. 9, 26: Benutzung zähen Schleimes, 8 Kapillaren. Vers. 25: Verwendeter Schleim war vollkommen flüssig, 2 Kapillaren.) Die Vers. 25, 26 haben in der folgenden Aufstellung keine Berücksichtigung erfahren. Vers. 8 wurde als Kontrolle für nicht selbständiges Aufsteigen von Kokken gewertet, Vers. 9 zum Beweis einer eigenmächtigen Aufwanderung beweglicher Stäbchen herangezogen.

Aufwanderung von Trichomonaden in den übrigen 22 Versuchen mit insgesamt 63 Kapillaren.

Trotz Aufwanderung von Trichomonaden kein Transport von Bakterien in 10 Versuchen (Vers. 4, 13: Staphylokokken und Diplokokken. Vers. 7: Bewegliche Stäbchen. Vers. 14, 15, 18, 19, 20: Schwach bewegliche Stäbchen. Vers. 22: Bewegliche Stäbchen, Staphylo- und Diplokokken. Vers. 24: Staphylokokken). In diesen 10 Versuchen kamen insgesamt 32 Kapillaren zur Anwendung.

Bakterientransport in den restlichen 12 Versuchen (Vers. 1, 2: Staphylo- und Diplokokken. Vers. 3: Staphylo- und Diplokokken und bewegliche Stäbchen. Vers. 5: Staphylokokken. Vers. 6: Bewegliche Stäbchen. Vers. 10: Staphylokokken. Vers. 11, 12: Schwach bewegliche Stäbchen. Vers. 16, 17, 23: Bewegliche Stäbchen. Vers. 21: Staphylokokken). In 29 von 31 zu diesen 12 Versuchen benützten Kapillaren konnten transportierte Keime nachgewiesen werden. Die restlichen 2 Kapillaren blieben steril. Unter den 12 Versuchen sind 5, bei denen damit zu rechnen ist, daß bewegliche Stäbchen bei ihrer selbständigen Aufwanderung von den Trichomonaden Unterstützung erfahren haben (Vers. 3, 6, 16, 17, 23) (s. u.). Bezüglich Vers. 3 ist zu sagen, daß die Staphylokokken mit Hilfe der beweglichen Stäbchen in den Schleim gelangt sein können und nicht allein durch Transport von Seiten der Trichomonaden. Daß die Tri-

chomonaden beim Transport von Kokken auf die Mithilfe von beweglichen Stäbchen nicht angewiesen sind, beweisen die Versuche 1, 2, 5, 10, wo Stäbchen nicht anwesend waren und die Staphylokokken und Diplokokken dennoch verschleppt wurden. Nach Abzug der oben erwähnten 5 Versuche bleiben noch 7 mit einwandfrei nachgewiesenem Bakterientransport. Versuch 3 darf nach den eben gemachten Ausführungen unbedenklich für positiv gewertet werden, so daß sich also die Zahl der Versuche mit Bakterien-Verschleppung auf 8 mit insgesamt 20 Kapillaren erhöht.

Im Ganzen sind demnach in 8 von 22 Versuchen, nach stattgehabter Aufwanderung der Trichomonaden, Keime mit Sicherheit befördert worden; auf die zur Verwendung gekommenen Kapillaren bezogen: in 20 von 63 Fällen. Dieses Verhältnis in Prozenten auszudrücken, halte ich nicht für angebracht, da die verschiedenen Keimarten nicht in gleicher Weise befördert wurden und auch nicht gleichmäßig an den Versuchen beteiligt waren.

Ein aufschlußreicheres Bild ergibt sich bei Zusammenstellung der Ergebnisse, bezogen auf die Bakterienarten.

Staphylo- und Diplokokken wurden in 5 Versuchen (Vers. 1, 2, 3, 10. 21, 16 Kapillaren) transportiert, in 6 Versuchen (Vers. 4, 6, 13, 22, 23, 24, 17 Kapillaren) kam ein Transport nicht zustande. In einem Versuch (Vers. 5, 2 Kapillaren) wurden in der ersten Kapillare Staphylokokken nachgewiesen, in die zweite waren die Trichomonaden in Reinkultur eingewandert. In vitro sind demnach Staphylo- und Diplokokken in ca. 45 % der Fälle befördert worden. Als Beweis für den Transport dienen die zu den einzelnen Versuchen ausgeführten Kontrollversuche sowie Versuch 8 und die 6 Versuche, wo die Kokken bei Ausfall des Transports Gelegenheit gehabt hätten, aus eigenem Antrieb aufzusteigen.

Stäbchen wurden einwandfrei nur in 2 Versuchen (Vers. 11, 12 mit zusammen 3 Kapillaren) verschleppt. Eine selbständige Aufwanderung kommt für die in den beiden Versuchen benutzten, schwach beweglichen Stäbchen nicht in Betracht, wie die Kontrollversuche dazu, ausgeführt mit 7 Kapillaren, beweisen. Als Bestätigung können auch die 6 Versuche (Vers. 14, 15, 18, 19, 20, 23) herangezogen werden, in denen dieses Stäbchen nicht passiv fortbewegt wurde und auch nicht aktiv aufgewan-

dert ist. Stäbchentransport konnte nicht konstatiert werden in 10 Versuchen (Vers. 6, 7, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 32 Kapillaren). Stäbchen wurden demnach in vitro nur in etwa 16 % der Fälle von den Trichomonaden befördert.

Eine selbständige Aufwanderung von beweglichen Bakterien wurde beobachtet in Versuch 9 (2 Kapillaren) und in den Kontrollversuchen zu Vers. 7, 16, 17 (5 Kapillaren), also in 7 Kapillaren, verteilt auf 4 Versuche.

Eigenmächtiges Aufwandern von beweglichen Stäbchen konnte ausgeschlossen werden in den Kontrollversuchen zu Vers. 16, 17, 21, 22 (8 Kapillaren). Die Versuche 6, 7, 21, 22 (10 Kapillaren), in denen Stäbchentransport nicht zur Beobachtung kam, die Stäbchen auch nicht von selbst die Kapillaren besiedelten, sind in gleichem Sinne verwertbar. In 40 % der Fälle vermochten demnach die beweglichen Stäbchen in vitro eigenmächtig aufzuwandern.

Bei Betrachtung von Versuch 16, 17 fällt auf, daß die beweglichen Stäbchen, die gemeinsam mit den Flagellaten im Ausgangsmaterial waren, nach Aufwanderung der Trichomonaden ebenfalls in den Kapillaren angetroffen wurden und zwar in allen 4 benutzten Kapillaren, während sie von 7 Kontrollkapillaren nur 3 selbständig besiedelten. Sie mögen daher, weil sie in den 4 Kapillaren der Hauptversuche so sicher gefunden wurden, bei ihrer Aufwanderung in den Schleim durch die Trichomonaden unterstützt worden sein, d. h. daß die Flagellaten die beweglichen Keime eine kurze Stecke Weges befördert oder vor sich hergeschoben haben und daß die Bakterien wiederum, wenn sie die Verbindung mit dem Trichomonadenkörper verloren hatten, einen Teil des Weges aus eigener Kraft zurücklegten um dann wieder von einer hinterherkommenden Trichomonade vorwärtsgedrängt zu werden. Diese Phasen aktiver und passiver Bewegung mögen dauernd gewechselt haben, so daß die Bakterien nach gewisser Zeit doch in den oberen Regionen der Kapillaren eintrafen, was ohne Mithilfe der Trichomonaden gar nicht oder viel später geschehen wäre. Genau wie hier, in Vers. 16, 17, dürften sich die Vorgänge auch, was die beweglichen Stäbchen des Ausgangsmaterials betrifft, in Vers. 3, Vers. 6 (Kap. 2 und 3) und Vers. 23 abgespielt haben. Zu Vers. 23 möchte ich außerdem noch bemerken, daß bloße Unterstützung der beweglichen Stäbchen durch die Trichomonaden anstelle

eines vollkommenen Transportes, trotzdem die Stäbchen im Kontrollversuch nicht von selbst aufwanderten, um so wahrscheinlicher ist, als die Aufwanderungszeit 2 mal 24 Stunden betrug.

Wie kommt es nun, daß einmal Keime von den Trichomonaden mitgenommen werden und das andere Mal wieder nicht? Unter Berücksichtigung des Keim- und Trichomonadengehaltes des Ausgangsmaterials und bei Beachtung der Schleimkonsistenz fällt es nicht schwer, die Gründe für den verschiedenen Ausgang der Versuche zu entdecken. In allen Fällen, wo ein Transport von Keimen zur Beobachtung kam, waren diese Keime im Ausgangsmaterial schon zahlreich vorhanden, desgleichen waren Trichomonaden in großer Anzahl und meist gut beweglich da und schließlich wich die Konsistenz des benutzten Schleimes und damit wohl auch seine chemische Zusammensetzung nicht wesentlich von der des normalen Brunstschleimes ab, so daß eine Gewähr für eine befriedigende Aufwanderung der Trichomonaden gegeben war. In all den Fällen, wo ein Bakterientransport ausfiel, waren mindestens eine, meist aber zwei dieser drei Forderungen nicht erfüllt. Es ist einleuchtend, daß, soll ein Transport zustande kommen, Trichomonaden aufwandern müssen und damit letzteres geschehen kann, muß ein guter, möglichst unveränderter Brunstschleim den Trichomonaden angeboten werden. Ebenso einleuchtend ist es, daß von v i e l e n Trichomonaden sich eher einige mit irgend einer Last beladen, als wenn nur w e n i g e Flagellaten als Keimträger zur Verfügung stehen und umgekehrt ist eine Adsorption und hieran anschließend Beförderung der Bakterien eher in den Bereich der Möglichkeit gerückt, wenn die Zahl der Bakterien groß ist.

Neben diesen drei soeben geschilderten Momenten war es für die Versuchsergebnisse wohl auch von Bedeutung, in welcher Höhe die Schleimsäule abgeimpft wurde. Im unteren Teil der Kapillaren sammeln sich naturgemäß immer mehr Trichomonaden an, als im mittleren oder oberen Abschnitt und es ist daher die Möglichkeit, daß Bakterien in der Kapillare gefunden werden, in ihrem unteren Teil weit größer als in ihrem oberen. Man kann sich das zwanglos so erklären, daß die Bakterien außer durch Druck- und Schubwirkung von Seiten der Trichomonaden durch Anhaften am Protozoen-

körper nach oben gelangen. In einer Höhe von 2—3—4 cm lichtet sich allmählich die Trichomonadenansammlung und ab hier kommt nur mehr die Adsorptionswirkung zur Geltung. Nun ist es aber so, daß nicht alle Flagellaten mit Keimen behaftet sind, sondern daß viele, wohl die Mehrzahl von ihnen, keine Gelegenheit haben, sich zu beladen und daher frei aufwandern. Diese, weil unbehindert, bewegen sich schneller fort und erreichen eher die oberen Regionen der Schleimkapillaren, als jene Exemplare, die sich mit irgend einer Last plagen müssen und darum auch schon auf halbem Wege ermatten. Zudem steht fest, daß viele Trichomonaden mit der Zeit ihre Ladung verlieren und ohne Anhängsel weiterstreben. Außerdem spielt wohl der Umstand eine Rolle, daß ältere, schwächer bewegliche Trichomonaden auf Bakterien und andere feste Bestandteile eine größere Adsorptionswirkung ausüben (infolge ihrer besonders klebrigen Oberfläche), als die junge Generation, die oberflächlich glatt und sauber erscheint. Es ist daher natürlich, daß erstere durch ihre an und für sich schwache Beweglichkeit und das Mehr an Ballast, das sie zu tragen haben, nicht so rasch vorwärts kommen und mitsamt den ihnen anhaftenden Keime und Detritusmassen im unteren Teil der Kapillaren auftreten und dieser Teil also immer stärker infiziert befunden wird, während der obere keimärmer, wenn nicht gar steril bleibt, wie einige Ergebnisse beweisen.

Ich hätte durch Abimpfen eines tiefer gelegenen Stückes der Schleimsäule, nach den obigen Ausführungen, sicher die Zahl der Fälle mit Bakterientransport vermehren können. Ich tat das aber absichtlich nicht, um mit Gewißheit nur Bakterien erfassen zu können, die über eine w e i t e r e Strecke befördert worden sind. Bei einer Feststellung von Bakterien in einer Höhe von beispielsweise nur 2 cm (d. i. etwa 1 cm über dem Flüssigkeitsspiegel des Ausgangsmaterials) hätte man entgegnen können, daß die Keime, auch unbewegliche, diese Höhe ohne Mittun der Trichomonaden erreicht haben, bzw. ihre geringe Ortsveränderung nur der Druck- und Schubwirkung der Trichomonaden zu verdanken haben, die aber wiederum immer nur auf 2—3 cm wirksam und für die Vorgänge unter natürlichen Verhältnissen also nicht so sehr von Bedeutung ist.

Die Trichomonaden länger als 24—48 Stunden aufwan-

dern zu lassen, war deswegen nicht durchführbar, weil die Flagellaten zu diesem Zeitpunkt schon abzusterben begannen und nur mehr schwer (bei Betrachtung der Kapillarstücke unter dem Mikroskop) nachweisbar waren und eine Vermehrung in dem Schleim anscheinend nicht stattfand. Wäre eine längere Aufwanderung durchführbar gewesen, dann hätte man wahrscheinlich die Grenze zwischen keimreichem und keimarmem bzw. sterilem Teil des Kapillarinhaltes etwas weiter nach oben verschoben vorgefunden.

Bezüglich des Transportes von Stäbchen fällt auf, daß ein solcher nur in etwa 16 % der Fälle beobachtet werden konnte. Die Erklärung dafür ist in dem mangelhaften Festhaften der Stäbchen an dem Flagellatenkörper zu suchen (s. o.). Für den Stäbchentransport scheint in erster Linie Druck- und Schubwirkung in Frage zu kommen und die Adsorption nur zu einem geringen Grade eine Rolle zu spielen. Wenn weiter oben gesagt wurde, daß diese Druck- und Schubwirkung nur auf eine Strecke von 2—3 cm wirksam ist, dann soll das nicht bedeuten, daß an der Beförderung der Stäbchen in Vers. 11, 12, wo in ca. 5 cm Höhe die Kapillaren durchtrennt wurden, die Adsorptionswirkung einen großen Anteil gehabt hat. In diesen beiden Versuchen waren die Trichomonaden in derart ungeheuren Mengen in die Kapillaren eingezogen, daß sie wohl ausnahmsweise Keime auf eine längere Strecke vor sich herschoben.

Es kann unter Berücksichtigung der Versuchsergebnisse und der damit in Einklang stehenden Erfahrungen, die ich bei den mikroskopischen Untersuchungen gemacht habe, als feststehend angesehen werden:

1. Trichomonaden wandern in Schleim ein, sofern er in seiner Zusammensetzung und Konsistenz nicht wesentlich vom Brunstschleim abweicht. Eine Einwanderung in durch Hitzeanwendung flüssig gewordenen oder zähen Schleim findet nur zögernd oder überhaupt nicht statt. Der Anteil des Schleimes, der auf die Trichomonaden anlockend wirkt, wird bei längerem Erhitzen auf eine Temperatur von mehr als etwa 75 ° Celsius zerstört.

2. Bakterien werden am besten verschleppt, wenn möglichst unveränderter Brunstschleim, möglichst viele Tricho-

monaden und viele Bakterien gegeben sind. Andernfalls findet eine Beförderung von Keimen kaum statt.

3. Staphylo- und Diplokokken werden unter diesen drei Bedingungen leicht und sicher transportiert. Sie haften den Trichomonaden gut an.

4. Eine Beförderung von Stäbchen ist nur bei massivster Aufwanderung der Trichomonaden möglich. Eine direkte Adsorption von Stäbchen kommt nur für kürzeste Strecken in Betracht.

5. Bewegliche Stäbchen können selbst aufwandern. Falls Trichomonaden und bewegliche Stäbchen zusammen vorkommen, können letztere durch die Trichomonaden in ihrer Fortbewegung unterstützt werden.

6. Die Bakterien werden nur an der Oberfläche der Trichomonaden klebend befördert.

C. Schlußfolgerungen

Sofern eine Übertragung der Versuche in vitro auf die Verhältnisse in der Natur erlaubt ist, lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. Die Feststellung, daß Vaginalschleim brünstiger Rinder auf die Trichomonaden eine anlockende Wirkung ausübt, bestätigt die in der Praxis gemachten Erfahrungen, daß eine Infektion des Uterus des Rindes hauptsächlich zur Zeit der Empfängnis stattfindet.

2. Viele Fälle von Pyometra und Endometritis, in denen Bakterien und Trichomonaden gleichzeitig gefunden werden, lassen sich durch die Tatsache des Bakterientransportes durch die Trichomonaden erklären. Die mehr oder weniger keimhaltige Scheide des Rindes wird bei jedem Sprung durch den Bullen bakteriell infiziert und es entsteht kurz danach meist ein unspezifischer Ausfluß, der nach einigen Tagen wieder vergeht. Immerhin sind kurze Zeit nach dem Deckakt viele Bakterien in der Vagina. Ist nun ein Bulle trichomonadenkrank, dann deponiert er in der Vagina außer den Bakterien einige Trichomonaden. Diese finden in dem entstehenden katarrhalischen Vaginalsekret gute Lebensbedingungen (*Abelein* (2), *Küst* (12), *Riedmüller* (13)) und vermehren sich rasch. Sie wandern dann unter Transport von Bakterien, da ihnen diese ja reichlich zur Verfügung stehen, in den Uterus ein und entfalten dort zusammen mit den mitgeschleppten, mehr oder minder virulenten Mikroorganismen ihre pathogene Wirkung. Sie können aber auch aus dem Präputialsack mitgebrachte Keime sofort in den Uterus verschleppen.

Mit ziemlicher Sicherheit darf ein Bakterientransport erwartet werden, wenn bei der Kuh ein Scheiden- und Vorhofkatarrh besteht oder der Bulle mit einem Präputialkatarrh behaftet ist, denn in solchen Fällen sind die Bedingungen für das Zustandekommen eines Transportes optimal erfüllt.

3. Deckt ein schwach infizierter Bulle, der ein klinisch völlig normales Genitale aufweist, das frei ist von jeglichen Zeichen der Entzündung, eine Kuh mit keimarmer oder nahezu keimfreier Scheide, dann ist damit zu rechnen, daß der Keimgehalt kurz nach dem Sprung nicht übermäßig groß ist und es zur Ausbildung eines unspezifischen kurzdauernden

Katarrhs nicht kommt, sondern daß der Keimgehalt der Vagina nach ganz kurzer Zeit wieder zur Norm zurückkehrt. Zu einer stärkeren Vermehrung der Flagellaten dürfte es also wegen des fehlenden Katarrhs nicht kommen. Es sind damit die für einen Bakterientransport ungünstigen Verhältnisse hergestellt und so die Möglichkeit gegeben, daß Trichomonaden durch den Zervikalkanal in den Uterus rein einwandern. Eventuell doch eine kurze Strecke mitgeschleppte einzelne Keime mögen durch das Zervikalsekret abgetötet oder wieder herausgeschwemmt werden, während die Trichomonaden den geringen Sekretfluß zu überwinden imstande sind. Eine Befruchtung findet statt, der Muttermund schließt sich und die Trichomonaden vermehren sich in dem reinen Uterussekret und üben allmählich ihre bekannten Wirkungen aus. Auf diese Weise also ist es möglich, daß im Tragsack des Rindes eine Reinkultur von Trichomonaden auftritt und ein Teil der im entzündeten Uterus des Rindes gefundenen Trichomonaden-Reinkulturen mag genau so entstanden sein (Myxometra mit grauweißem, nicht eitrigem Sekret bei zwei Nulliparen, *Abelein* (2)). Die übrigen Reinkulturen von Trichomonaden haben sich wohl infolge Phagozytose der Begleitbakterien durch Leukozyten gebildet.

Ich halte mich auf Grund der durch meine Versuche in vitro gewonnenen und auf natürliche Verhältnisse wohl übertragbaren Erkenntnis, daß Bakterientransport nicht in jedem Fall erfolgen muß, zu dem Schluß berechtigt, daß Trichomondaen primär in Reinkultur im Uterus des Rindes vorkommen und somit für die dort zu beobachtenden Schäden verantwortlich zu machen sind. In der Mehrzahl der Fälle wird aber ihre primär krankmachende Wirkung durch eingeschleppte oder schon vorhandene Begleitbakterien verschleiert.

4. Ein Teil der bakterienhaltigen Trichomonaden - Pyometren ist wohl ursprünglich bakteriell steril gewesen und erst nachträglich infiziert worden, da nach *Abelein* (3) und *Küst* (12) bei älteren Pyometren die Zervix sich zeitweise öffnen und dann eine Infektion eintreten kann.

5. Mit der Fähigkeit der Trichomonaden, Bakterien zu befördern, kann auch die nicht seltene Beobachtung gedeutet werden, daß in Betrieben mit eigener Stierhaltung und bei Einschleppung der Trichomonadenseuche in bisher unverseuch-

te Bestände zunächst hauptsächlich Frühaborte vorkommen, während bei genossenschaftlicher Bullenhaltung Umrindern, Gebärmutterkatarrhe und Pyometren häufiger sind. Die Verhältnisse im gesunden Genitalapparat der Tiere eines bislang unverseuchten Bestandes sind wohl für den Bakterientransport nicht günstig und es treten daher infolge alleiniger Infektion des Uterus mit Trichomonaden in der Hauptsache typische Frühaborte auf. Sind dagegen bei den Rindern Vorhof- und Scheidenkatarrhe, bei den Stieren Präputialkatarrhe schon vorhanden, wie das bei gemeinschaftlicher Bullenhaltung leicht der Fall ist, dann ist den Trichomonaden Gelegenheit gegeben, die verschiedenartigen Bakterien aus Vagina und Präputium in den Uterus hinein zu tragen. Dort rufen sie im Verein mit den Begleitbakterien Gebärmutterentzündungen und Pyometren als Folge atypischen Aborts hervor.

Eventuell können die Trichomonaden von besonders virulenten Bakterien verdrängt werden, so daß eine rein bakterielle Endometritis zurückbleibt.

Eine Methode zur Reinzüchtung der Geschlechtstrichomonaden des Rindes

Bei der Bedeutung, die ich dem Problem des Bakterientransportes durch die Trichomonaden beimesse, möchte ich noch einmal einen einzelnen Versuch näher beschreiben und gleichzeitig möchte ich dabei aufzeigen, daß bei entsprechend geschickter Handhabung des Versuches die Möglichkeit besteht, die Trichomonaden von den sie begleitenden Bakterien auf rein mechanische Weise zu trennen. Eine derartige direkte Trennung der Trichomonaden von den Begleitbakterien ist nach dem mir vorliegenden Schrifttum bisher noch nicht geglückt.

1932 hat sich *Abelein* (2) mit der Züchtung der Rindertrichomonaden befaßt. Als Nährboden benützte er Amnion- und Allantoisflüssigkeit, die vorher sterilisiert worden war. In 1 Fall konnte er eine Vermehrung bis zur 7. Generation erzielen. Ein Versuch, die Kulturen durch Zentrifugieren zu reinigen, scheiterte ebenso, wie die Flagellaten in Kapillaren einzufangen und dann weiter zu züchten. Immerhin hat Verfasser damit gezeigt, daß eine Zucht der Rindertrichomonaden überhaupt möglich ist.

1933 gelang es *Witte* (20) als erstem, Trichomonaden aus sterilem Pyometrainhalt des Rindes bakterienfrei zu züchten. Damit war bewiesen, daß Trichomonas genitalis zur Vermehrung nicht auf die Anwesenheit von Bakterien angewiesen ist.

1935 gaben *Wagner* und *Hees* (17) ein Verfahren an, durch das Trichomonas vaginalis und andere Trichomonasarten kulturell nachgewiesen werden können, wobei jedoch das gleichzeitige Vorhandensein von Bakterien mit in Kauf genommen wird.

Davis (zit. nach *Hees* (8)) soll es gelungen sein, die Geschlechtstrichomonade des Menschen in Dextrosebouillon unter Zugabe von 50 % menschlichem Serum reinzuzüchten.

Dobell (zit. nach *Wagner-Hees* (17)) wendet zur Reinigung von menschlichen Trichomonadenkulturen eine Methode an, nach welcher die Kulturen wochenlang im Eisschrank gehalten, dann umgeimpft und 2 Tage in den Brutschrank gestellt und

hierauf wiederum in den Eisschrank gebracht werden. Dieser Vorgang wiederholt sich einige Male.

In dem zu beschreibenden Versuch, der mir u. a. eine Reinkultur von Trichomonaden bringen sollte, war ich bestrebt, ähnliche Verhältnisse herzustellen, wie sie in Versuch 5 gegeben waren. Aus Kapillare 2 zu Versuch 5 gelang es, wie geschildert, eine Reinkultur zu erhalten. Das Ausgangsmaterial bestand aus trichomonaden-, staphylo- und diplokokkenhaltigem Vaginalschleim, welcher mit sterilem Pinsel entnommen worden war. Wie bei der Notierung des Versuches 5 unter Bemerkungen erwähnt ist, wurde die Schleimsäule verhältnismäßig weit oben abgeimpft, an einer Stelle also, die von mit Kokken beladenen Trichomonaden zu dem Zeitpunkt der Verimpfung auf einen trichomonadenspezifischen Nährboden noch nicht erreicht worden war. Es waren offenbar nur die am weitesten nach oben gewanderten, nicht mit Kokken infizierten Trichomonaden erfaßt worden (siehe die unter „Zusammenfassung der Ergebnisse" niedergeschriebenen Erläuterungen, betreffend die Aufwanderungs- und Transportverhältnisse der Trichomonaden in mit Schleim gefüllten Kapillaren).

Auch im vorliegenden Versuch stand mir mit Eiterflocken durchsetzer Vaginal-Zervikalschleim, welcher mit der gereinigten, aber nicht desinfizierten Hand abgenommen worden war und neben vielen Trichomonaden Staphylokokken in Reinkultur enthielt, zur Verfügung. Der Nachweis der Keime erfolgte durch Anlegen einer Agarplatte. Nach 2 Tagen waren etwa 25 Kolonien mit einem Durchmesser bis zu 2 mm gewachsen. Es handelte sich um Staphylokokkus pyogenes aureus und albus. Ich konnte das Material nicht unmittelbar nach der Entnahme verarbeiten und habe es daher 2 Tage lang in den Eisschrank gestellt. Nach 2 Tagen waren die Trichomonaden nicht mehr so zahlreich vorhanden wie vorher und zeigten nur mehr schwache Kreisbewegungen, die meisten nur eine Bewegung auf der Stelle bzw. Undulation der Membran. Die Kapillaren füllte ich nicht mit Schleim (wegen der Schwierigkeiten, die seine Sterilisierung bot), sondern saugte sterile Bluttraubenzuckerbouillon, die ich vom Tierhygienschen Institut, in dem dieser Nährboden als sehr geeignet für Trichomonadenzüchtung erkannt war, ebenso wie alle sonst gebrauchten Nährböden erhielt, in die 4 zur Verwendung gekommenen

und mit einem Siegellackring ausgestatteten Haarröhrchen auf. Je eins davon stellte ich dann in ein mit dem Ausgangsmaterial unter sterilen Kautelen bis zu einer Höhe von 1 cm beschicktes, steriles Reagenzglas. Reagenzgläser mitsamt Kapillaren kamen dann in den Brutschrank. 3 davon nahm ich schon nach 4 Stunden wieder heraus und verimpfte die Inhalte der in ihnen steckenden Kapillaren in trichomonadenspezifische Nährböden. Ich wartete nicht, wie ich es bei den Versuchen zum Nachweis des Bakterientransportes getan hatte, 24 Stunden lang, weil ich annehmen mußte, daß die Bouillon in den Kapillaren außer von den Trichomonaden auch von den Kokken ziemlich rasch besiedelt würde und war darauf aus, den Geschwindigkeitsunterschied auszunützen und die schnelleren Trichomonaden zu erfassen, bevor die Kokken zur Stelle waren. Ich rechnete natürlich auch mit Bakterientransport und verimpfte daher, von der Erkenntnis ausgehend, daß die am weitesten nach oben gelangten Trichomonaden oft bakterienfrei sind, jeweils einen ziemlich weit oben gelegenen Teil des Kapillarinhaltes. Im Einzelnen ergab sich Folgendes:

Kapillare 1: Abschneiden eines Stückes von 4 cm und Untersuchung auf Trichomonaden. Die Geißeltierchen waren zahlreich aufgewandert und hingen z. T. in großen Trauben zusammen. Von der restlichen Kapillare wurden etwa 3 cm des Inhaltes auf eine Öse ausgeblasen und dann in Bluttraubenzuckerbouillon verbracht. In dem nach dem Ausblasen noch in der Kapillare verbliebenen Rest von Bouillon waren Trichomonaden nicht nachweisbar. Ich konnte also annehmen, in dem verimpften Bouillontröpfchen die am weitesten in die Kapillare eingewanderten Flagellaten erfaßt zu haben. Nach 3tägigem Aufenthalt im Brutschrank untersuchte ich das beimpfte Röhrchen. Ich fand wenige, jedoch sehr gut bewegliche Trichomonaden, z. T. mit 2 Membranen und doppelter Anzahl von Geisseln. Im Giemsapräparat konnte ich auch einige Teilungsfiguren von Flagellaten mit 2 Achsenstäben und 2 Kernen beobachten. Einige Exemplare zogen 1, 2 und mehr rote Blutkörperchen hinter sich her. Bei Färbung mit Methylenblau konnte ich Bakterien nicht ermitteln. Ich säte daher eine Öse der Trichomonadenkultur auf Agar aus: Kein Wachstum nach 2 Tagen. Nachprüfung dieses Ergebnisses im Tierhygienischen Institut: Reinkultur von Geschlechtstrichomonaden des Rindes.

Bei Untersuchung der Kultur nach 5 Tagen fand ich Trichomonaden in großen Mengen.

Kapillare 2: Diese Kapillare wurde in einer Höhe von 5 cm abgeschnitten und die folgenden 2 cm des Inhaltes in Bluttraubenzuckeragar gebracht. In einer Höhe von 7 cm waren keine Trichomonaden mehr feststellbar, während sie im unteren Abschnitt von 5 cm reichlich anwesend waren. Nach 3 Tagen Trichomonaden in Reinkultur. Prüfung durch Aussaat einer Öse der Kultur auf Agarplatte und Nachprüfung im Tierhygienischen Institut.

Kapillare 3: Mäßige Aufwanderung der Flagellaten im abgeschnittenen Stück von 4 cm; der Inhalt der Kapillare wurde zwischen 4 und 8 cm in Bluttraubenzuckerbouillon verimpft. In einer Höhe von 8 cm und mehr waren Trichomonaden nicht mehr nachweisbar. Keine Trichomonaden in den Bouillonröhrchen nach 3 und mehr Tagen. Aussaat auf Agar: Eine punktförmige weiße Kolonie von Staphylokokken.

Kapillare 4: Wurde erst nach 17 stündigem Aufenthalt im Brutschrank auf Aufwanderung hin untersucht. Es wurden wiederum 4 cm abgeschnitten, der Inhalt des folgenden Stükkes von etwa 5 cm in ein Röhrchen mit Bluttraubenzuckeragar gebracht und dieses nach 4 Tagen auf Trichomonaden untersucht. Trichomonaden waren nicht gewachsen, dagegen Staphylokokken, wie durch Anlage einer Platte festgestellt wurde. Es trat auf der Platte eine einzige, punktförmige, gelbe Kolonie auf. Daß die Flagellaten die ganze Kapillare bevölkert hatten innerhalb von 17 Stunden, bewies die Untersuchung des Inhaltes derselben in 9—13 cm Höhe, wo ich mehrere Exemplare ausmachen konnte.

Bei 2 von 4 Kapillaren ist es also gelungen, auf rein mechanische Weise die Trichomonaden von den Bakterien zu trennen und damit zu einer Reinkultur zu gelangen.

Beim Arbeiten mit sterilem Brunstschleim wären voraussichtlich die Aussichten auf Gelingen der Trennung günstiger, da die Kokken innerhalb von 24 Stunden nie aus eigenem Antrieb die Schleimkapillare besiedeln. Wenn ich zudem die drei Forderungen für den Bakterientransport nicht restlos erfülle, sondern von einem Material ausgehe, das wenig Bakterien oder wenige Trichomonaden oder noch besser beides nur in geringer Anzahl enthält oder die Zahl der in 1 mm^3 enthaltenen

Keime und Trichomonaden künstlich durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung verringere, so ist es theoretisch ohne weiteres möglich, eine Reinkultur von Trichomonaden zu erhalten. Das Arbeiten mit Brunstschleim hat nur den Nachteil, daß ein guter und klarer Brunstschleim schwer zu bekommen ist und eine sichere Sterilisierung, bei der der Schleim möglichst unverändert bleibt, große Schwierigkeiten hat.

Falls es sich um Trennung der Trichomonaden von un- oder schwachbeweglichen Stäbchen handelt, wird die Methode, wie die bei den Aufwanderungsversuchen gemachten Erfahrungen lehren, wahrscheinlich sicherer funktionieren, als bei einer Absonderung der Flagellaten von Kokken.

In Fällen, in denen die Protozoen von beweglichen Stäbchen begleitet werden, dürfte sie sich nur ausnahmsweise bewähren.

Literaturangaben

1. *Abelein:* Beitrag zur Kenntnis des von Bang-Infektion unabhängigen Frühabortes. M. T. W. 1929, Nr. 49.
1a. *Abelein:* Trichomonaden in den Geschlechtsorganen des Rindes.M. T. W. 1930, Nr. 20.
2. *Abelein:* Die Trichomonadenseuche des Rindes und das Scheidenkatarrhproblem. M. T. W. 1932, Nr. 22, 24, 25, 26, 27.
4. *Beller:* D. T. W. 1925, Nr. 14.
5. *Daust:* Beitrag zur Klinik und Behandlung des Trichomonadenabortes des Rindes. Diss. Gießen 1934.
6. *Drescher* und *Hopfengärtner:* Der Trichomonadenabortus des Rindes. M. T. W. 1933, 109.
7. *Gehring* und *Murray:* Cultivation of Trichomonas bovis. The Corn. Vet., Vol. XXIII, Nr. 4, 1933, 335.
8. *Hees:* Trichomonasproblem I, Klin. Wochenschr. 1931, Nr. 25, 1176, Nr. 26, 1223.
9. *Hees:* Fluorproblem, Klin. Wochenschr. 1933, Nr. 43, 1697, Nr. 44, 1737.
10. *Hees:* L'ascension du Trichomonas Vaginalis. Gynécologie et Obstétrique, t. 34, Nr. 3, 1936, 191.
11. *Kohl:* Ein Beitrag zum Vorkommen von Trichomonaden im gesunden und kranken Geschlechtsapparat des Rindes. Diss. Gießen 1933.
12. *Küst:* Frühabort des Rindes. D. T. W. 1934, Nr. 28.
13. *Riedmüller:* Über die Morphologie, Übertragungsversuche und klinische Bedeutung der beim sporadischen Abort des Rindes vorkommenden Trichomonaden. Zentralblatt f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrh., 1. Abt. 1928, Bd. 108, S. 103.
14. *Riedmüller:* Trichomonas in connection with abortion in cattle. The J. of St. Med., Vol. XXXVIII, Nr. 1, S. 1—8, 1929.
15. *Riedmüller:* Experimenteller Abortus beim Rind, verursacht durch intravaginale Übertragung von Trichomonaden. Schw. Arch. f. Thk. 1933, 457.
16. *Sziklai:* Trichomonaden im Uterus des Rindes. W. T. M. 1933, 701.
17. *Wagner* und *Hees:* Der kulturelle Nachweis von Trichomonas vaginalis und anderen Trichomonasarten. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrkh., 1. Abt. 1935, Bd. 135.
18. *Weidenauer:* Über das Vorkommen von Trichomonaden im Uterus des Rindes. Diss. München 1930.
19. *Wenrich* und *Emmerson:* Studies on the morphologie of Trichomonas foetus (Riedmüller) (Protozoa, Flagellata) from American cows. J. of Morphologie, Vol. 55, Nr. 1, 193, 1933.
20. *Witte:* Bakterienfreie Züchtung von Trichomonaden aus dem Uterus des Rindes in einfachen Nährböden. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrkh., 1. Abt. 1933, Bd. 128.

Lebenslauf

Am 1. Januar 1911 wurde ich, Otto Mann, als Sohn des Schneidermeisters Anton Mann und seiner Ehefrau Magdalena, geb. Siegwart, zu St. Ingbert geboren. Von 1917 bis 1924 besuchte ich die Volksschule und trat nach einer Aufnahmeprüfung im Juli 1924 in die 2. Klasse des Reform-Realgymnasiums St. Ingbert ein. An derselben Anstalt erhielt ich im März 1932 das Reifezeugnis.

Am 1. Mai 1932 begann ich mein Studium an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Während des 5. und 6. Semesters studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Berlin, im 7. Semester war ich an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover eingeschrieben und kehrte dann wieder nach München zurück.

Meine Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 1. Juli 1937.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Abelein für das Vertrauen, das er mir mit Überlassung des interessanten Themas bewiesen hat, sowie für die vielen Ratschläge und Anregungen ergebenst zu danken; desgleichen möchte ich meinen ergebensten Dank aussprechen Herrn Professor Dr. Ernst, Vorstand des Tierhygienischen Instituts, für die liebenswürdigen Anregungen und freundliche Bereitstellung von Kulturen und sämtlichen verbrauchten Nährböden und Nährflüssigkeiten. Auch möchte ich nicht versäumen Herrn Dr. habil. Sedlmeier bestens zu danken für die stets bereitwillige Ausführung von Untersuchungen, Herrn Dr. Krembs für die Anfertigung der Mikroaufnahmen und den Herren Assistenten Dangelmeier und Linke für die Hilfe, die sie mir bei Beschaffung des Materials und bei Durchführung der Versuche zuteil werden ließen.

Druck: Akademische Buchdruckerei F. Straub, München